

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**

**EMANUELLE ANDRADE RETZLAFF**

**ACÚMULO DE NUTRIENTES E CALIBRAÇÃO DA DOSE DE NITROGÊNIO  
PARA PRODUTIVIDADE E QUALIDADE DE *Melissa officinalis* L.**

**CURITIBA**

**2016**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ**  
**SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO**

**EMANUELLE ANDRADE RETZLAFF**

**ACÚMULO DE NUTRIENTES E CALIBRAÇÃO DA DOSE DE NITROGÊNIO**  
**PARA PRODUTIVIDADE E QUALIDADE DA *Melissa officinalis* L.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Área de Concentração Solo e Ambiente, do Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Ciência do Solo.

Orientador: Prof. Dr. Volnei Pauletti

Coorientador: Prof. Dr. Cícero Deschamps

**CURITIBA**

**2016**



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
SETOR DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DO SOLO  
Mestrado e Doutorado



## PARECER

A Banca Examinadora designada para avaliar a defesa da Dissertação de Mestrado de **EMANUELLE ANDRADE RETZLAFF**, intitulada: **Acúmulo de nutrientes e calibração da dose de nitrogênio para produtividade e qualidade da *Melissa officinalis* L.**, do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná, após análise do texto e arguição do candidato, emitem parecer pela **“APROVAÇÃO”** da referida Dissertação. O candidato atende assim um dos requisitos para a obtenção do título de **Mestre em Ciência do Solo - Área de Concentração Solo e Ambiente**.

Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, em Curitiba, 25 de fevereiro de 2016.

Prof. Dr. Volnei Pauletti, Presidente

Dr. Cirino Corrêa Junior, Iº. Examinador

Prof. Dr. Cícero Deschamps, IIº. Examinador

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pelo dom da vida, por conceder saúde e força durante todo esse tempo.

Aos meus pais, Manoel e Rosana, aos meus irmãos Mario e Paola, pelo apoio e incentivo e confiança nas minhas escolhas.

Ao Felipe, que além de se tornar meu amigo, se tornou meu namorado, me ajudou muito, fez parte desse trabalho e pela sua família, sempre me deram força para a realização do mesmo.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo da UFPR, pelo convívio e aprendizado, em especial ao orientador professor Dr. Volnei Pauletti e ao coorientador professor Cícero Deschamps pela orientação, ensinamento, confiança, paciência, dedicação e amizade durante esse tempo.

A todos os colegas de Pós-Graduação em Ciência do Solo da UFPR, Bruna, Cristhian, Jeide, Bruno, Sísara, Daniella, Hilbert, Alcione, Karla, Thiago e João pela amizade e convivência, em especial ao Marcus, Priscila, Mariana pela força e ajuda no trabalho de campo e de laboratório.

Aos funcionários do Departamento de Solos e Engenharia Agrícola da UFPR e Denise, Marla, Eveline, Fabiana, Carla, Maria, Letícia e Roberto, pelo apoio e ensinamento nos trabalhos laboratoriais. Ao Roger do Departamento de Fitotecnia, ao Altair e ao Lorival que ajudaram na instalação e condução experimento a campo e aos demais funcionários da Fazenda Canguiri que de alguma forma colaboraram.

A Boutin Fertilizantes pelo apoio a esta pesquisa, através da doação dos adubos utilizados no experimento.

Aos meus amigos Maia, Milene, Mayara e a Prof.<sup>a</sup> Flora Osaki pela amizade, força e incentivo.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

Enfim, a todas as pessoas de que alguma maneira contribuíram para que esse trabalho se realizasse.

## SUMÁRIO

RESUMO GERAL .....	vii
GENERAL ABSTRACT .....	ix
INTRODUÇÃO GERAL .....	1
LITERATURA CITADA .....	3
CAPÍTULO 1. CRESCIMENTO E DINÂMICA DE ABSORÇÃO DE NUTRIENTES PELA <i>Melissa officinalis</i> L.....	7
RESUMO .....	7
ABSTRACT .....	8
1.1 INTRODUÇÃO .....	9
1.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	9
1.2.1 Área experimental .....	9
1.2.2 Instalação e condução do experimento.....	10
1.2.3 Variáveis analisadas .....	10
1.2.4 Análise estatística.....	12
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	12
1.3.1 Acúmulo de massa seca e taxa de crescimento absoluto.....	12
1.3.2 Acúmulo de nutrientes e taxas de acúmulo diário.....	13
1.4 CONCLUSÕES .....	20
1.5 LITERATURA CITADA .....	20
CAPÍTULO 2. DOSES DE NITROGÊNIO PARA A MÁXIMA PRODUTIVIDADE DE BIOMASSA DE <i>Melissa officinalis</i> L.....	22
RESUMO .....	22
ABSTRACT .....	23
2.1 INTRODUÇÃO .....	24
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	25
2.2.1 Área experimental .....	25
2.2.2 Instalação e condução do experimento.....	26
2.2.3 Variáveis analisadas .....	28
2.2.4 Análise estatística.....	29
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	29

2.3.1	Produtividade .....	29
2.3.2	Teor e conteúdo dos nutrientes.....	32
<b>2.3</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>41</b>
<b>2.4</b>	<b>LITERATURA CITADA .....</b>	<b>41</b>
<b>CAPÍTULO 3. ADUBAÇÃO NITROGENADA NA PRODUÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE</b>		
<b><i>Melissa officinalis</i> L.....</b>		<b>44</b>
<b>RESUMO .....</b>		<b>44</b>
<b>ABSTRACT .....</b>		<b>45</b>
<b>3.1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>46</b>
<b>3.2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>47</b>
3.2.1	Área experimental .....	47
3.2.2	Instalação e condução do experimento.....	48
3.2.3	Variáveis analisadas .....	49
3.2.4	Análise estatística.....	50
<b>3.2</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>50</b>
<b>3.4</b>	<b>CONCLUSÕES .....</b>	<b>57</b>
<b>3.5</b>	<b>LITERATURA CITADA .....</b>	<b>57</b>

# ACÚMULO DE NUTRIENTES E CALIBRAÇÃO DA DOSE DE NITROGÊNIO PARA PRODUTIVIDADE E QUALIDADE DA *Melissa officinalis* L.<sup>1</sup>

Autora: Emanuelle Andrade Retzlaff

Orientador: Prof. Dr. Volnei Pauletti

Coorientador: Prof. Dr. Cícero Deschamps

## RESUMO GERAL

As plantas medicinais fazem parte do cotidiano da humanidade a milhares de anos. Recentemente o consumo de plantas com propriedades medicinais vem aumentando, devido à busca das pessoas por melhores condições de vida de forma mais natural e saudável. A *Melissa officinalis* L. é uma espécie de grande importância entre as plantas medicinais e aromáticas, devido as suas propriedades terapêuticas e pela produção de óleo essencial, utilizado nas indústrias de cosméticos, alimentos e farmacêutica. Embora esteja ocorrendo o aumento no consumo e utilização de plantas medicinais, como da *Melissa officinalis* L., há poucos estudos sobre seu cultivo, e principalmente sobre a adubação e a nutrição da mesma. Neste sentido, foram conduzidos quatro experimento a campo, em que o primeiro teve por objetivo estudar o crescimento e a absorção e o acúmulo de macro e micronutrientes pela cultura da melissa, e os outros três para estabelecer doses de nitrogênio que proporcionem a máxima produtividade de biomassa para cada colheita dentro do mesmo ciclo, e avaliar se a adubação nitrogenada altera a quantidade produzida e a qualidade do óleo essencial na *Melissa officinalis* L. No primeiro experimento, o delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com 10 tratamentos e três repetições. Cada tratamento correspondeu a uma época de avaliação realizadas em intervalos de 15 dias. Para os demais experimentos, o delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com cinco tratamentos e cinco repetições. Cada tratamento correspondeu a uma dose de N em cobertura (0, 40, 80 120 e 160 kg ha<sup>-1</sup> de N), com cinco repetições cada. O crescimento da melissa foi lento até os 45 DAT, atingindo a taxa máxima de crescimento absoluto aos 61 DAT. O comportamento do acúmulo de nutrientes e das taxas diárias de acúmulo na melissa mostrou-se semelhante ao da massa seca. A sequência de acúmulo de nutrientes verificada para a melissa ficou estabelecida na seguinte

---

<sup>1</sup> Dissertação de Mestrado em Ciência do Solo. Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná. Curitiba. (59 p.) Fevereiro, 2016.

ordem decrescente  $K > N > Ca > P > Mg > Fe > B > Zn > Mn > Cu$ . As taxas máximas de acúmulo de nutrientes foram aos 42, 81, 54, 68, 61, 61, 55, 67, 135 e 107 DAT, para N, P, K, Ca, Mg, B, Cu, Fe, Mn e Zn respectivamente, que correspondem aos períodos de maior exigência dos nutrientes nas condições do presente trabalho. A adubação de plantio ( $20 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$ ) foi suficiente para a máxima produtividade de melissa para a primeira colheita, enquanto que na segunda e terceira colheitas, as doses de cobertura para a máxima produtividade foram de 105 e  $77 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$ , respectivamente. Com exceção de N, a maioria dos nutrientes apresentou redução dos conteúdos com o aumento das doses de nitrogênio nas três colheitas. A adubação nitrogenada não alterou o teor e a quantidade de óleo essencial produzido pela melissa. A dose de  $160 \text{ kg ha}^{-1}$  de N proporcionou as menores porcentagens de geraniol (composto químico não desejável) nas três colheitas.

Palavras-chave: Óleo essencial. Adubação nitrogenada. Calibração.



# **NUTRIENTS ACCUMULATION AND CALIBRATION OF NITROGEN RATES FOR PRODUCTIVITY AND QUALITY OF *Melissa officinalis* L.<sup>2</sup>**

Authoress: Emanuelle Andrade Retzlaff

Advisor: Prof. Dr. Volnei Pauletti

Co-Advisor: Prof. Dr. Cícero Deschamps

## **GENERAL ABSTRACT**

Medicinal plants are part of humanity for thousands of years. Recently, the consumption of plants with medicinal properties has increased due to search of people for better quality of life in a more natural and healthy way. *Melissa officinalis* L. is a species of great importance between the medicinal and aromatic plants, because of their therapeutic properties and the production of essential oil, used in cosmetic, food and pharmaceutical industries. Although the increase in consumption and use of medicinal plants, especially *Melissa officinalis* L., there are few studies about its cultivation, principally on fertilization and mineral nutrition. Thus, three experiments were conducted under field conditions: where the first aimed to study the absorption and accumulation of macro and micronutrients in the culture of lemon balm; the second experiment to establish rates of nitrogen that provide maximum productivity of biomass in *Melissa officinalis* L. for each harvest within the same crop cycle; and the third experiment to evaluate whether the nitrogen fertilization alters the quantity and quality of essential oil produced by *Melissa officinalis* L. In the first experiment, the experimental design was in randomized blocks with three replicates and ten treatments. Each treatment corresponded to a collection/evaluation time held at intervals of 15 days. For the second and third experiment, the experimental design was also in randomized blocks, with five treatments and five replications. The treatments correspond to increasing rates of nitrogen in coverage (0, 40, 80 120 e 160 kg ha<sup>-1</sup> de N). The growth of lemon balm was slow to 45 DAT, reaching the maximum rate of absolute growth at 61 DAT. The accumulation and daily rates of accumulation in the lemon balm were similar to the dry mass. The nutrient accumulation sequence for lemon balm was established in the following descending order K> N> Ca> P> Mg> Fe> B> Zn> Mn> Cu. The maximum rates of daily nutrient uptake were at 42, 81, 54,

---

<sup>2</sup>Masters Dissertation in Soil Science. Postgraduate Program in Soil Science Sector of Agricultural Sciences, Federal University of Paraná. Curitiba. (59 p.) February, 2016.

68, 61, 61, 55, 67, 135 and 107 DAT for N, P, K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn and Zn respectively, showing the period of greatest demand of nutrients in terms of this work. In the first harvest to planting fertilization ( $20 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$ ) was enough for maximum productivity lemon balm, while the second and third crops, cover doses for maximum productivity were  $105$  and  $77 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$ , respectively. With the exception of N, most nutrients content decreased with increasing levels of nitrogen in three crops. The content of nutrients in the first and third harvest behaved in the following descending order:  $\text{K} > \text{N} > \text{Ca} > \text{P} > \text{Mg} > \text{Fe} > \text{B} > \text{Zn} > \text{Mn} > \text{Cu}$ , while the second crop N was higher than K, obeying following descending order  $\text{N} > \text{K} > \text{Ca} > \text{P} > \text{Mg} > \text{Fe} > \text{B} > \text{Zn} > \text{Mn} > \text{Cu}$ . Nitrogen fertilization does not change the content and the amount of essential oil produced by lemon balm. The dose of  $160 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$  provided the lowest percentages of geraniol (not desirable chemical compound) in the three harvests. The dose of  $160 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$  provided the lowest percentages of geraniol (not desirable chemical compound) in the three harvests.

Key-words: Essential oil. Nitrogen fertilization. Calibration.

## INTRODUÇÃO GERAL

O uso de plantas medicinais já se fazia presente desde as primeiras civilizações (Alves, 2013; Marques et al., 2014) e seus benefícios e conhecimentos foram repassados de geração a geração com a evolução do homem (Firmo et al., 2011). Atualmente, o cultivo e o consumo de plantas medicinais vêm crescendo devido à busca das pessoas pela medicina alternativa, garantindo assim, uma maior importância no mercado (Souza et al., 2007), e tem representado uma opção de renda para pequenos produtores, pois seu cultivo é feito em pequena escala. No Brasil há uma vasta biodiversidade de plantas, porém os investimentos em fitoterápicos ainda são pequenos quando comparados com países europeus, que investem altamente em produção e comercialização dos produtos naturais (Klein et al., 2010; Alves, 2013).

Dentre os estados brasileiros, o Paraná é o maior produtor de plantas medicinais, aromáticas e condimentares, correspondendo a 90 % da produção nacional (Stremel et al., 2015). Entre as plantas medicinais, aromáticas e condimentares cultivadas no Estado, destaca-se a *Melissa officinalis* L., conhecida como melissa, erva-cidreira verdadeira, chá de frança, pertence à família Lamiaceae, sendo originária da Ásia e Europa (Moradkhani et al., 2010; Seidler-Lozykowska et al., 2013). É uma espécie importante entre as plantas medicinais e aromáticas devido as suas propriedades terapêuticas e principalmente pela produção de óleo essencial, que possui componentes químicos muito utilizados pelas indústrias cosmética, alimentícia, de produtos de limpeza e farmacêutica (Haber et al., 2005; Vaverková et al., 2012) e também a utilização das folhas na indústria de chás.

A melissa é uma planta perene, possui em suas folhas tricomas glandulares peltados, onde contém a maior parte do óleo essencial, que tem como componente majoritário o composto citral (Adinee et al., 2008; May et al., 2008; Biasi et al., 2009; Seidler-Lozykowska et al., 2013; Argyropoulos e Müller, 2014). O óleo essencial possui propriedades farmacológicas como antifúngica antibacteriana e principalmente ansiolítica, e também antiviral sobre o vírus da herpes labial (Lorenzi e Matos, 2002; Mimica-Dukic et al., 2004; Blank et al., 2005; Haber et al., 2005; Pereira et al., 2005).

O óleo essencial é produzido no metabolismo secundário das plantas (Pimentel et al., 2006) e está relacionado com o sistema de defesa da planta às condições adversas do ambiente. A quantidade e a qualidade do seu princípio ativo produzido podem alterar consideravelmente em função de diversos fatores incluindo a nutrição da planta (Stefanini et

al., 2002; Ramos et al., 2005; Gobbo-Neto e Lopes, 2007; May et al., 2008; Luz et al., 2009; Sales et al., 2009; Costa et al., 2013).

A demanda nutricional da planta é verificada através da marcha de absorção e do acúmulo de nutrientes durante o seu ciclo, definindo os nutrientes exigidos em maior quantidade, a fase de maior demanda, a distribuição na planta, e a extração e exportação de nutrientes. Tendo-se estas informações, é possível estabelecer o momento adequado para realizar a adubação, aumentando a eficiência nutricional das culturas (Franco et al., 2007; May et al., 2008; Echer et al., 2009; Marschner, 2012). Apesar disso, estudos relacionados à demanda nutricional e doses de nutrientes para obtenção de melhores produtividades para a melissa são escassos, bem como para a maioria de outras espécies medicinais e aromáticas (Amaral et al., 2010).

Dentre os aspectos da nutrição de plantas, o nitrogênio (N) é um dos principais nutrientes estudados na família Lamiaceae, correlacionando seu efeito com o rendimento, composição e qualidade de biomassa e óleo essencial (Sotiropoulou e Karamanos, 2010). Para grande parte das plantas medicinais e aromáticas, o uso da adubação nitrogenada aumenta o teor de óleo essencial em função do aumento da biomassa por área, área foliar e taxa fotossintética (Deschamps et al., 2012).

Na literatura são encontrados diversos trabalhos com adubação nitrogenada, relacionando esta adubação ao maior crescimento e desenvolvimento da planta com aumento do rendimento de biomassa e óleo essencial na família Lamiaceae. Porém, a maioria dos trabalhos avalia como fonte de nitrogênio os adubos orgânicos (Wolanski e Carvalho, 2006; Luz et al., 2009; Corrêa et al., 2010; Sodré et al., 2013). Estes adubos são muito utilizados no cultivo da melissa por se tratar de uma espécie cultivada em pequena escala, onde os produtores fazem uso dessa adubação, normalmente disponível na propriedade, e também devido ao seu baixo custo.

Outros trabalhos referem-se somente a doses fixas de N em uma única aplicação ou em doses fixas fracionadas após o transplante e após cada colheita (Frabboni et al., 2011; Karamanos e Sotiropoulou 2013; Yaseen et al., 2014), sem definir a dose a dose de máxima produtividade para cada colheita. Apesar disso, não foram encontrados trabalhos com o objetivo de calibrar a dose de N após cada colheita e sobre as exigências nutricionais e recomendação de adubação, utilizando como recomendação de adubação, informações baseadas na adubação de outras espécies da mesma família Lamiaceae (Maia e Furlani, 1996; CQFS RS/SC, 2004).

Diante o exposto, o objetivo geral do trabalho foi determinar a curva de extração de nutrientes e calibrar a dose de N para produtividade de biomassa e óleo essencial para *Melissa officinalis* L., conduzindo quatro experimentos a campo.

Esta dissertação está dividida em capítulos, os quais correspondem aos seguintes objetivos específicos: I - Estudar o crescimento e a absorção e acúmulo de macro e micronutrientes pela cultura da melissa, em condições de cultivo a campo. II - Estabelecer doses de nitrogênio que proporcionem a máxima produtividade de biomassa em *Melissa officinalis* L. para cada colheita dentro do mesmo ciclo e; III - Avaliar se a adubação nitrogenada altera a quantidade produzida e a qualidade do óleo essencial na *Melissa officinalis* L.

## LITERATURA CITADA

- Adinee J, Piri K, Karami O. Essential oil component in flower of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). American Journal of Biochemistry and Biotechnology. 2008; 4:277-278.
- Alves LF. Produção de Fitoterápicos no Brasil: História, Problemas e Perspectivas. Revista Virtual Química. 2013; 5:450-513.
- Amaral AS DO, Radünz LL, Mossi AJ, Santi A, Rosa NMFF DA, Feiten F. Rendimento de matéria seca e de óleo essencial de *Baccharis trimera* com adubação química e orgânica. Revista de Ciências Agroveterinárias. 2010; 9:20-28.
- Argyropoulos D, Müller J. Changes of essential oil content and composition during convective drying of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). Industrial Crops and Products. 2014; 52:118-124.
- Biasi LA, Kowalski APJ, Signor D, Alves MA, Lima FI, Deschamps C. Tipos de cobertura do solo e épocas de colheita na produção de melissa. Horticultura Brasileira. 2009; 27:314-318.
- Blank AF, Fontes SM, Oliveira ASO, Mendonça MC, Silva-Mann R, Arrigoni-Blank MF. Produção de mudas, altura e intervalo de corte em melissa. Horticultura Brasileira. 2005; 23:780-784.
- COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO - RS/SC. Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. 10ª ed. Porto Alegre, 2004.
- Corrêa RM, Pinto JEBP, Reis ES, Costa LCB, Alves PB, Niculan ES, Brant RS. Adubação orgânica na produção de biomassa de plantas, teor e qualidade de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) em cultivo protegido. Revista Brasileira de Plantas Medicinais. 2010; 12:80-89.

- Costa GA, Carvalho Filho JLS, Deschamps C. Rendimento e composição do óleo essencial de patchouli (*Pogostemon cablin*) conforme o tempo de extração. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. 2013; 15:319-324.
- Deschamps C, Monteiro R, Machado MP, Bizzo H, Biasi LA. Produção de biomassa, teor e composição do óleo essencial de *Mentha x piperita* L. em resposta a fontes e doses de nitrogênio. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. 2012; 14:12-17.
- Echer FR, Dominato JC, Creste JE. Absorção de nutrientes e distribuição da massa fresca e seca entre órgãos de batata-doce. *Horticultura Brasileira*. 2009; 27:176-182.
- Firmo WCA, Menezes VJ, Passos CEC, Dias CN, Alves LPL, Dias ICL, Santos Neto M, Olea RSG. Contexto histórico, uso popular e concepção científica sobre plantas medicinais. *Caderno de Pesquisa*. 2011; 18:90-95.
- Frabboni L, Simone G, Russo V. The influence of different nitrogen treatments on the growth and yield of basil (*Ocimum Basilicum* L.). *Journal of Chemistry and Chemical Engineering*. 2011; 5:799-803.
- Franco C F, Prado R DE M, Braghirolli LF, Rozane DE. Curva de crescimento e marcha de absorção de macronutrientes em mudas de goiabeira. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 2007; 31:1429-1437.
- Gobbo-Neto L, Lopes, NP. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*. 2007; 30:374-381.
- Haber, LL, Luz JMQ, Arvatidóro LF, Santos JE. Diferentes concentrações de solução nutritiva para o cultivo de *Mentha Piperita* e *Melissa officinalis*. *Horticultura Brasileira*. 2005; 23:1006-1009.
- Karamanos AJ, Sotiropoulou DE. Field studies of nitrogen application on Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart) essential oil during two cultivation seasons. *Industrial Crops and Products*. 2013; 46:246-252.
- Klein T, Longhini R, Bruschi ML, Mello JCP. Fitoterápicos: um mercado promissor. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica Aplicada*. 2010; 30:241-248.
- Lorenzi H, Matos FJA. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2002.
- Luz JMQ, Moraes TPS, Blank AF, Sodré ACB, Oliveira GS. Teor, rendimento e composição química do óleo essencial de manjeriço sob doses de cama de frango. *Horticultura Brasileira*. 2009; 27:349-353.
- Marques MCA, Baggio CH, Santos EP DOS, Oliveira FC DE. Plantas medicinais utilizadas pela pastoral da criança de Almirante Tamandaré – PR - BR. 1ª Ed. Curitiba: UFPR; 2014.

- Maia NB, Furlani AMC. Menta ou hortelã. In: Raij B, Cantarella H, Quaggio JA, Furlani AMC. (eds). Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo, 2. ed. Campinas: IAC, 1996, p.82 (Bolitin técnico 100).
- Marschner, H. Mineral Nutrition of Higher Plants. 3<sup>a</sup> ed. San Diego: Academic Press. 2012.
- May A, Bovi AO, Sacconi LV, Samra AG, Pinheiro MQ. Produtividade da biomassa de melissa em função de intervalo de cortes e doses de nitrogênio. Horticultura Brasileira. 2008; 26:312-315.
- Mimica-Dukic N, Bozin B, Sokovic M, Simin N. Antimicrobial and antioxidant activities of *Melissa officinalis* L. (Lamiaceae) essential oil. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2004; 52:2485-2489.
- Moradkhani H, Sargsyan E, Bibak H, Naseri B, Sadat-Hosseini M, Fayazi-Barjin A, Meftahizade H. *Melissa officinalis* L., a valuable medicine plant: a review. Journal of Medicinal Plants Research. 2010; 4:2753-2759.
- Pereira P, Tysca D, Oliveira P, Silva BLF, Picada JN, Ardenghi P. Neurobehavioral and genotoxic aspects of rosmarinic acid. Pharmacology Research. 2005; 52:199-203.
- Pimentel FA, Cardoso MG, Salgado APSP, Aguiar PM, Silva VF, Morais AR, Nelson DLA. Convenient method for the determination of moisture in Aromatic Plants. Química Nova. 2006; 29:373-375.
- Ramos SJ, Fernandes LA, Marques CCL, Silva DD, Palmeira CM, Martins ER. Produção de matéria seca e óleo essencial de menta sob diferentes doses de fósforo. Revista Brasileira de Plantas Medicinais. 2005; 8:9-12.
- Sales JF, Pinto JEBP, Botrel PP, Silva FG, Correa RM, Carvalho JG. Germinação de sementes, crescimento da planta e composição química do óleo essencial de *Hyptis marruboides* EPL., Lamiaceae. Bioscience Journal. 2009; 25:60-68.
- Seidler-Lozykowska K, Bocianowski J, Król D. The evaluation of the variability of morphological and chemical traits of the selected lemon balm (*Melissa officinalis* L.) genotypes. Industrial Crops and Products. 2013; 49:515-520.
- Sodré ACB, Haber LL, Luz JMQ, Marques MOM, Rodrigues CR. Adubação orgânica e mineral em melissa. Horticultura Brasileira. 2013; 31:147-152.
- Sotiropoulou DE, Karamanos AJ. Field studies of nitrogen application on growth and yield of Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart). Industrial Crops and Products. 2010; 32:450-457.
- Souza MAA, Araujo OJL DE, Ferreira MAF, Stark EMLM, Fernandes MS, Souza SR. Produção de biomassa e óleo essencial de hortelã em hidroponia em função de nitrogênio e fósforo. Horticultura Brasileira. 2007; 25:41-48.
- Stefanini MB, Rodrigues SD, Ming LC. Ação de fitorreguladores no crescimento da erva-cidreira-brasileira. Horticultura Brasileira. 2002; 20:18-23.

- Stremel EP, Bertolini GRF, Stremel DP, Grandi AM de. Fatores socioeconômicos relacionados à produção de plantas medicinais. *Revista em Agronegócio e Meio Ambiente*. 2015; 8:421-439.
- Vaverková S, Mistríková I, Farkas P. Qualitative properties of *Melissa officinalis* after the application of Rastim 30 DKV. *Botanica Serbica*. 2012; 36:81-84.
- Wolanski T, Carvalho RIN DE. Análise do crescimento e desenvolvimento da Melissa (*Melissa officinalis* L.) em diferentes níveis de adubação orgânica. *Revista Acadêmica: Ciência Animal*. 2006; 4:39-48.
- Yaseen M, Singh M, Ram D, Singh K. Production potential, nitrogen use efficiency and economics of clarysage (*Salvia sclarea* L.) varieties as influenced by nitrogen levels under different locations. *Industrial Crops and Products*. 2014; 54:86-91.



## **CAPÍTULO 1. CRESCIMENTO E DINÂMICA DE ABSORÇÃO DE NUTRIENTES PELA *Melissa officinalis* L.**

### **RESUMO**

A recomendação de adubação é uma das dificuldades encontradas no cultivo de plantas medicinais, incluindo a cultura da melissa, pois há carência de informações relacionadas à sua exigência nutricional. Neste trabalho, objetivou-se estudar o crescimento e a absorção e acúmulo de macro e micronutrientes pela cultura da melissa, em condições de cultivo a campo. O experimento foi conduzido na Estação Experimental do Canguiri, da Universidade Federal do Paraná - UFPR – em Pinhais – PR. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com três repetições e 10 tratamentos. Cada tratamento correspondeu a uma época de avaliação/coleta. As coletas foram realizadas em intervalos de 15 dias, do tempo zero onde foram avaliadas as mudas transplantadas até o início da senescência das plantas (135 dias após transplante - DAT). As variáveis analisadas foram: acúmulo de massa seca, taxa de crescimento absoluto, teor e conteúdo dos nutrientes e taxas diárias de acúmulo dos nutrientes. O crescimento da melissa foi lento até os 45 DAT, atingindo a taxa máxima de crescimento absoluto aos 61 DAT. O acúmulo e as taxas diárias de acúmulo de nutrientes na melissa foram semelhantes ao da massa seca. A sequência de acúmulo de nutrientes verificada para a melissa ficou estabelecida na seguinte ordem decrescente  $K > N > Ca > P > Mg > Fe > B > Zn > Mn > Cu$ . As taxas máximas de acúmulo diário para estes nutrientes foram aos 54, 42, 68, 81, 61, 67, 61, 107, 135 e 55DAT.

Palavras-chave: Acúmulo de nutrientes. Exigência nutricional. Melissa. Plantas medicinais.

## CHAPTER 1. GROWTH AND NUTRIENT ABSORPTION BY DYNAMIC *Melissa officinalis* L.

### ABSTRACT

Fertilizer recommendations, is one of the difficulties encountered in the cultivation of medicinal plants, especially for the culture of lemon balm, because there is a lack of information related to their nutritional requirements. This work aimed to study the growth and absorption and accumulation of macro and micronutrients in the culture of lemon balm, in a field experiment. The experiment was carried out at the Experimental Farm of the Federal University of Paraná, located in the city of Pinhais. The experimental design was in randomized blocks with three replicates and ten treatments. Each treatment corresponded to a collection/evaluation time. Samples were collected at intervals of 15 days, from time zero where the transplanted seedlings were evaluated to the early senescence of the plants (135 days after transplant - DAT). The analyzed variables were: dry matter accumulation, absolute growth rate, concentration and content of nutrients and daily rates of nutrients accumulation. The growth of lemon balm was slow to 45 DAT, reaching the maximum rate of absolute growth at 61 DAT. The accumulation and daily rates of accumulation in the lemon balm were similar to the dry mass. The nutrient accumulation sequence for lemon balm was established in the following descending order K> N> Ca> P> Mg> Fe> B> Zn> Mn> Cu. The maximum rates of daily nutrient uptake were at 42, 81, 54, 68, 61, 61, 55, 67, 135 and 107 DAT for N, P, K, Ca, Mg, Cu, Fe, Mn and Zn respectively, showing the period of greatest demand of nutrients in terms of this work.

Key-words: Accumulation of nutrients. Nutritional requirement. Lemon balm. Medicinal plants.

## 1.1 INTRODUÇÃO

Durante o período de crescimento e desenvolvimento de uma planta, a demanda nutricional varia, havendo maior exigência no período de florescimento e crescimento de órgãos, e posteriormente, queda na absorção e acúmulo dos nutrientes devido à senescência (Malavolta et al., 1997; Taiz e Zeiger, 2009).

A demanda nutricional da planta é verificada através da marcha de absorção e do acúmulo de nutrientes durante o seu ciclo, definindo os nutrientes exigidos em maior quantidade, a fase de maior demanda, a distribuição na planta, e a extração e exportação de nutrientes. Tendo-se estas informações, é possível estabelecer o momento adequado para realizar a adubação, aumentando a eficiência nutricional das culturas (Franco et al., 2007; May et al., 2008; Echer et al., 2009; Marschner, 2012).

A melissa é uma espécie de grande importância entre as plantas medicinais devido às suas propriedades terapêuticas e produção de óleo essencial utilizado pela indústria. Estudos relacionados à demanda nutricional e doses de nutrientes para obtenção de melhores produtividades para a melissa são escassos, bem como para a maioria de outras espécies medicinais e aromáticas (Amaral et al., 2010).

No cultivo da melissa, utilizam-se como recomendação de adubação, informações baseadas em outras espécies da mesma família Lamiaceae, como a hortelã e a menta (Maia e Furlani, 1996; CQFS RS/SC, 2004). Com isso, o objetivo deste trabalho foi estudar o crescimento e a absorção e acúmulo de macro e micronutrientes pela cultura da melissa, em condições de cultivo a campo.

## 1.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 1.2.1 Área experimental

O experimento foi realizado a campo, no Núcleo Temático em Horticultura (Setor de Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares) na Fazenda Experimental do Canguiri da Universidade Federal do Paraná – UFPR, no Município de Pinhais, região Metropolitana de Curitiba - PR, a 25°23' latitude Sul e 49°07' longitude Oeste, com altitude de 930 metros. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Cfb mesotérmico úmido sem estação seca definida, com geadas frequentes no inverno, com temperatura média do mês mais quente inferior a 22°C. O solo é caracterizado como Cambissolo Háplico (EMBRAPA, 2013),

onde foram coletadas amostras na profundidade de 0-0,2 m para as análises da caracterização química, conforme Marques e Motta (2003), e granulométrica (TABELAS 1 e 2).

TABELA 1. Atributos químicos do solo na área dos experimentos na profundidade de 0-0,2 m.

pH		Al	H+Al	Ca	Mg	K	P	C
CaCl <sub>2</sub>	SMP		.....	cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> .....			..... g dm <sup>-3</sup> .....	
5,5	6,2	0	4,3	8,5	3,5	0,86	27,5	100,6

TABELA 2. Atributos granulométricos do solo na área dos experimentos, na profundidade de 0-0,2 m.

Argila	Silte	Areia Total	Areia Grossa	Areia Fina
..... g kg <sup>-1</sup> .....				
525	150	325	141	184

### 1.2.2 Instalação e condução do experimento

As mudas de melissa foram adquiridas comercialmente (produzidas a partir de sementes da marca Feltrin<sup>®</sup>) e transplantadas no espaçamento de 0,3 m entre plantas e 0,3 m entre as linhas, em canteiros previamente preparados, com 1,2 m de largura e espaçados a 0,5 m, definindo uma população de 78.333 plantas por hectare. Na adubação de plantio, seguiu-se a recomendação para hortelã e menta (Maia e Furlani, 1996), as quais pertencem à mesma família da melissa, aplicando 20 kg ha<sup>-1</sup> de N, 40 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 30 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, na forma de ureia, supertriplo e cloreto de potássio, respectivamente, incorporados ao solo. O cultivo foi conduzido com sistema de irrigação por gotejamento, instalando fitas de gotejo ao longo dos canteiros. Para a cobertura dos mesmos utilizou-se mulching plástico (20 µ).

A condução do experimento deu-se entre os meses de novembro/2014 a abril/2015. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso, com três repetições e 10 tratamentos correspondentes à época de avaliação. As coletas foram realizadas em intervalos de 15 dias, do transplante até o início da senescência das plantas (135 dias após transplante - DAT). A parcela foi composta por 16 plantas, dispostas em quatro linhas de quatro plantas cada. Como parcela útil para as determinações, utilizaram-se as quatro plantas centrais de cada parcela.

### 1.2.3 Variáveis analisadas

As variáveis analisadas foram acúmulo de massa seca e taxas de crescimento absoluto, teor, conteúdo e taxas diárias de acúmulo dos nutrientes: nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), boro (B), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn) nas folhas e ramos.

Em cada data estabelecida, as plantas foram colhidas rente ao solo (em torno de 0,1 m da superfície do solo). As plantas foram analisadas por inteiro até os 45 DAT, a partir desse período, as plantas passaram a ser separadas em folhas e ramos. Não foi avaliado o sistema radicular. O material coletado foi pesado, separa em folhas e ramos e levado para secar em estufa de circulação forçada de ar a 65°C até atingirem massa constante. Em seguida foi realizada a pesagem para determinação da massa da matéria seca e trituradas em partículas com diâmetro inferior a 1 mm em moinho Willey para análise dos nutrientes.

Foi realizada extração dos nutrientes da planta por digestão ácida (Martins e Reissmann, 2007), e posterior determinação dos teores de P, K, Ca, Mg, B, Cu, Fe, Mn e Zn por espectrofotometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado. A análise de nitrogênio (N-total) foi efetuada por combustão em analisador CHONS, marca ELEMENTAR, modelo VARIO EL III. As análises foram realizadas no Laboratório de Biogeoquímica e Nutrição de Plantas, do Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, Setor de Ciências Agrárias (UFPR).

O conteúdo dos nutrientes em cada parte da planta foi obtido pelo produto entre o teor do elemento e a massa da matéria seca correspondente. O conteúdo total de nutrientes em cada época avaliada correspondeu ao somatório das quantidades presentes nas folhas e nos ramos.

A taxa de crescimento absoluto foi obtida pela derivada primeira da equação ajustada à massa seca da planta. A partir dos valores da massa seca e dos teores de N, P, K, Ca, Mg, B, Cu, Fe, Mn e Zn, foram calculados os acúmulos de nutrientes nas folhas e nos ramos. A taxa de acúmulo diário de cada nutriente foi obtida pela derivada primeira da equação ajustada ao conteúdo de cada nutriente na planta, em função dos DAT.

#### 1.2.4 Análise estatística

Os resultados encontrados foram analisados quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett, e posteriormente ajustados a equação de modelo logístico sigmoidal não linear de três parâmetros obtida através do programa gráfico SigmaPlot 12.0:

$$y = \frac{a}{(1 + \exp^{-(x-x_0)/b})}$$

Onde:  $y$  é o acúmulo de massa seca e de macro e micronutriente,  $a$  é o valor de máximo acúmulo  $x_0$ , o valor de  $x$ , em DAT, que proporciona o máximo em  $y$  e  $b$ , a amplitude no valor de  $x$ , em DAT, entre o ponto de inflexão e o ponto de máximo.

### 1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 1.3.1 Acúmulo de massa seca e taxa de crescimento absoluto

A melissa teve um desenvolvimento lento do início do ciclo, até os 45 DAT, quando acumulou 23% massa seca (MS) total (13 g planta<sup>-1</sup>) (FIGURA 1). A partir desse período (45 DAT) o acúmulo de MS total cresceu acentuadamente, acumulando 43 g planta<sup>-1</sup> correspondendo 77% da MS total acumulada, sendo que o período de maior acúmulo de MS foi dos 45 aos 90 DAT (FIGURA 1), correspondendo 63 % do total acumulado, o qual foi influenciado pelo aumento no número de ramos, crescimento das ramificações e consequentemente produção de folhas (Mauad et al., 2015). Após os 90 DAT, foi observada redução no acúmulo da MS, devido à senescência e provavelmente por estar atingindo o final do ciclo.

Ao final do período avaliado (135 DAT) as plantas acumularam 55 g planta<sup>-1</sup> de MS total, e as folhas e os ramos acumularam 25 e 16 g planta<sup>-1</sup> de MS. A melissa, portanto, acumularam na parte aérea mais folhas (médias de 46% da MS) que ramos (média de 31% da MS). Isso é importante do ponto de vista de produção de chá no mercado interno, beneficiando os pequenos produtores (Blank et al., 2005) e de óleos essenciais, pois são nas folhas onde concentram-se maior a parte do óleo essencial, o qual é muito utilizado pelas indústrias na fabricação de cosméticos, remédios, aromatizantes, entre outros (Lorenzi e Matos, 2002; Haber et al., 2005; Vaverková et al., 2012; Seidler-Lozykowska et al., 2013). A produtividade média da melissa aos 135 DAT foi de 7397 kg ha<sup>-1</sup> de MS, considerada

superior ao considerados para a região Sul e Sudeste do Brasil onde a produtividade média é de 2000 kg ha<sup>-1</sup> ano<sup>-1</sup> (Corrêa Junior e Scheffer, 2004).

A taxa máxima de crescimento absoluto para a planta inteira ocorreu dos 61 aos 66 DAT, atingindo 0,88 g planta<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> de MS (68,93 kg ha<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>), voltando a diminuir até o final do período avaliado (FIGURA 1B). Para as folhas, a taxa de máxima de crescimento ocorreu aos 63 DAT permanecendo constante até os 79 DAT com acúmulo de 0,36 g planta<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> (28,19 kg ha<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> de MS), diminuindo até os 135 DAT. Nos ramos, a taxa de crescimento máxima ocorreu aos 61 DAT permanecendo constante até aos 80 DAT, com acúmulo de 0,24 g planta<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> (18,79 kg ha<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> de MS), diminuindo também até os 135 DAT.

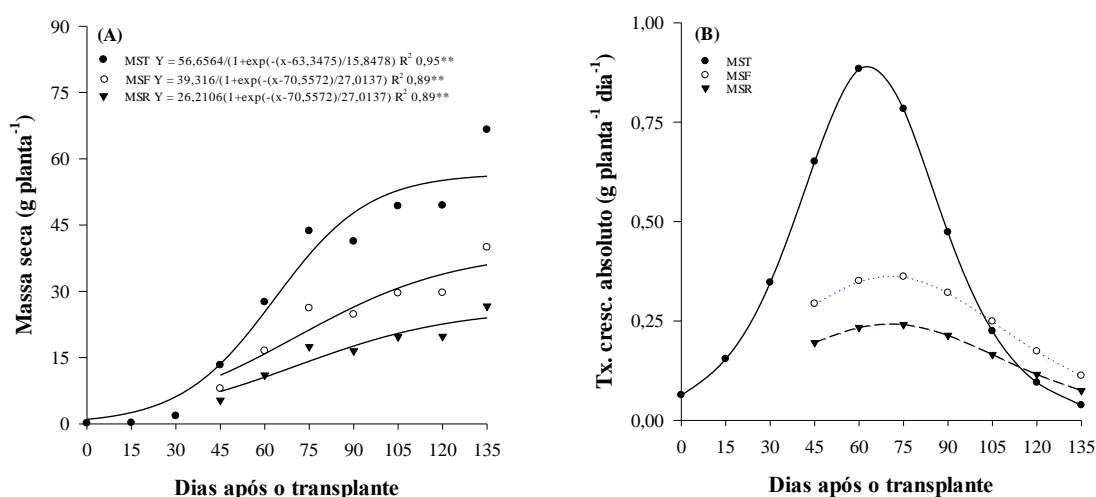


FIGURA 1. Acúmulo de massa seca (A) e taxa de crescimento absoluto (B) na planta inteira (folha + ramo), folhas e ramos de melissa cultivada a campo.

### 1.3.2 Acúmulo de nutrientes e taxas de acúmulo diário

O comportamento do acúmulo de nutrientes (FIGURA 2) e das taxas diárias de acúmulo (FIGURA 3) na melissa mostrou-se semelhante ao da massa seca (FIGURA 1), que tiveram um aumento dos 50 aos 90 DAT, fase de maior demanda dos nutrientes pela cultura da melissa, diminuindo posteriormente até o final do período avaliado.

O K foi o macronutriente mais acumulado pela melissa. O acúmulo total de K ao final do período avaliado foi de 867,7 mg planta<sup>-1</sup>, resultando numa extração de 67,9 kg ha<sup>-1</sup> (FIGURA 2C). A taxa máxima de acúmulo pela planta toda foi aos 54 DAT com 27,88 mg planta<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>. Para as folhas a taxa máxima de acúmulo ocorreu 56 DAT, com 11,45 mg

planta<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> e nos ramos a taxa máxima de acúmulo foi de 18,32 mg planta<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> aos 53 DAT (FIGURA 3C).

O N foi o segundo nutriente mais acumulado pelas plantas de melissa sendo superado pelo K. A quantidade de N acumulada ao final do experimento foi de 710,3 mg planta<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> correspondendo a uma extração de 55,6 kg ha<sup>-1</sup> de N (FIGURA 2A). Para as folhas e ramos o acúmulo de N não se ajustou às curvas de regressão, com isso não foi possível definir a taxa de acúmulo diária (FIGURA 2A e 3A).

O Ca foi o terceiro nutriente mais absorvido pela melissa, acumulando ao final do experimento 432,6 mg planta<sup>-1</sup>, equivalente a 33,8 kg ha<sup>-1</sup> (FIGURA 2D). O máximo acúmulo considerando a planta inteira foi de 5,56 mg planta<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, dos 68 aos 70 DAT, nas folhas foi de 3,56 mg planta<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> dos 89 aos 91 DAT, e nos ramos, pela falta de ajuste da curva de regressão, não foi possível definir a taxa de acúmulo diária (FIGURA 3D).

O P foi o quarto nutriente mais acumulado pela melissa com maior acúmulo nas folhas. A quantidade de P acumulada ao final do experimento foi de 125,93 mg planta<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> correspondendo a uma extração de 9,8 kg ha<sup>-1</sup> de P (FIGURA 2B). O máximo acúmulo de P considerando a planta inteira foi de 1,31 mg planta<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, nas folhas foi de 1,14 mg planta<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> e nos ramos 0,52 mg planta<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, ocorrendo aos 135 DAT (FIGURA 3B).

Dentre os macronutrientes avaliados, o Mg foi o menos absorvido pela melissa, onde o acúmulo total de 113,9 mg planta<sup>-1</sup>, totalizando 8,9 kg ha<sup>-1</sup> ao final da avaliação (FIGURA 2E). O máximo acúmulo considerando a planta inteira foi de 1,81 mg planta<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, dos 61 aos 62 DAT, nas folhas foi de 0,99 mg planta<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup> dos 60 aos 68 DAT, e nos ramos 0,25 mg planta<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>, ocorrendo dos 97 aos 110 DAT (FIGURA 3E).

Considerando que a melissa é colhida aproximadamente aos 90 DAT, a quantidade de nutrientes acumulada foi de 55,5; 5,2; 66; 22,2; 6,9 kg ha<sup>-1</sup> de MS para N, P, K, Ca e Mg, respectivamente, e também o N e o K foram os nutrientes mais acumulados pela cultura da melissa. Esta quantidade é inferior ao observado até o final do ciclo, e deve ser considerada para reposição do exportado com a colheita.



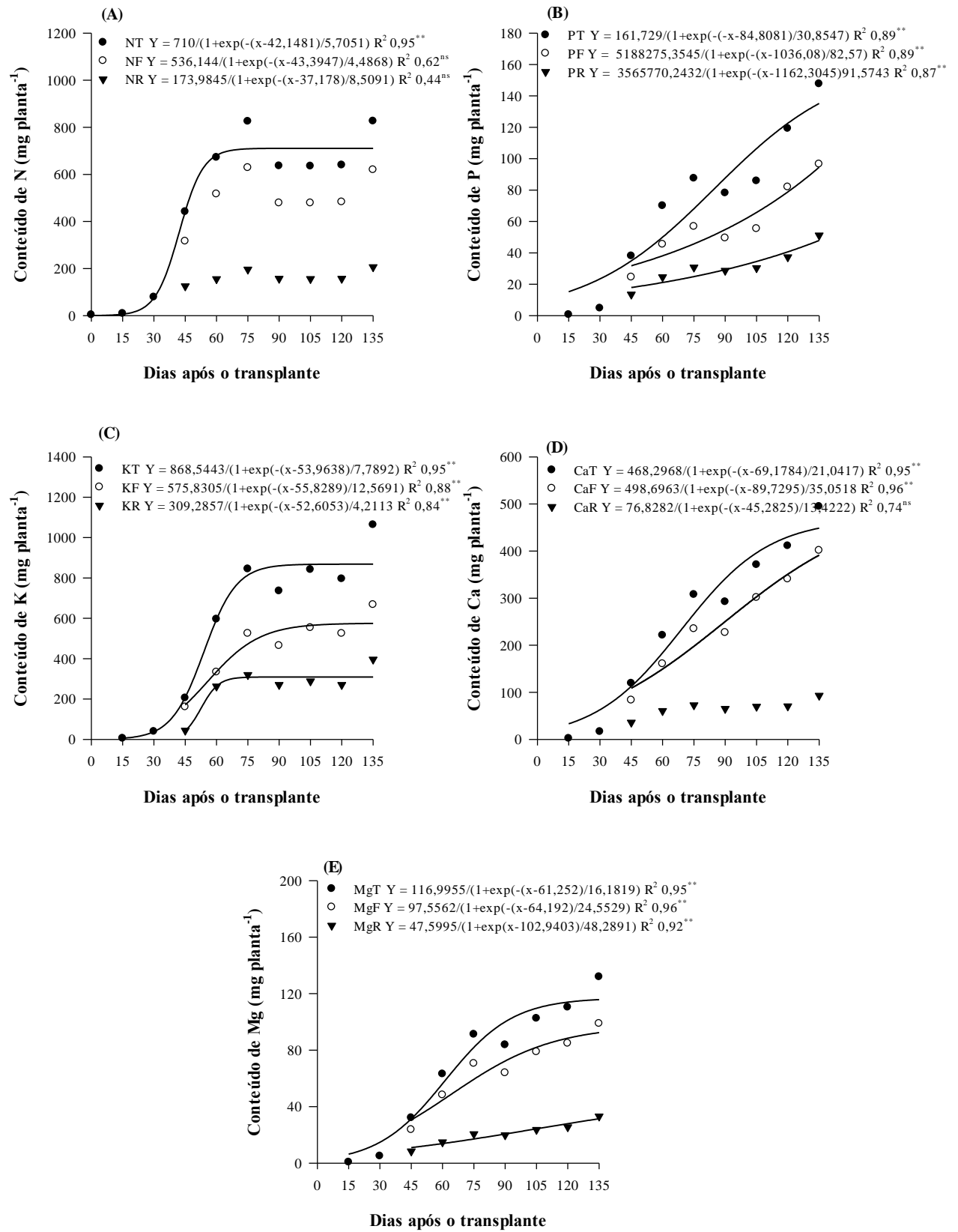


FIGURA 2. Conteúdo de N (A), P (B), K (C), Ca (D) e Mg (E) na planta toda, folhas e ramos de plantas de melissa cultivada a campo.

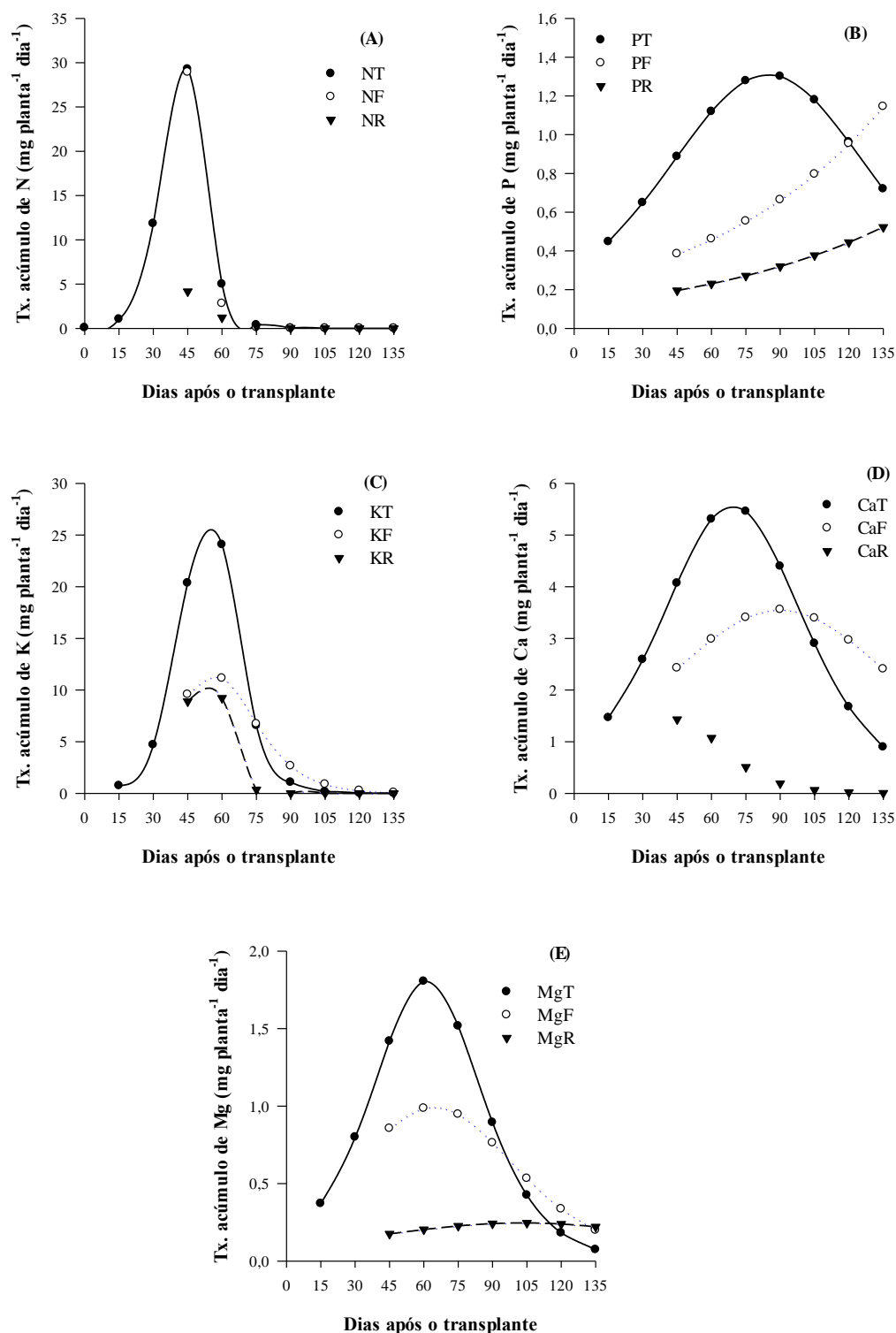


FIGURA 3. Taxas diárias de acúmulo de N (A), P (B), K (C), Ca (D) e Mg (E) na planta toda, folhas e ramos de plantas de melissa, cultivada a campo.

O acúmulo dos micronutrientes (FIGURA 4) na melissa obedeceu a seguinte ordem decrescente: Fe > B > Zn > Mn > Cu, acumulando ao final do período avaliado de 286,3; 146,6; 111,3; 83,6 e 27,7 g ha<sup>-1</sup> de MS, respectivamente. Considerando o período de colheita

da melissa, que ocorre aos 90 DAT, o acúmulo na parte aérea dos micronutrientes foi de 126,2; 25,7; 200,5; 27,2; 44,2 g ha<sup>-1</sup> de MS para B, Cu, Fe, Mn e Zn, o que deve ser considerado para reposição do exportado da área de cultivo.

As maiores taxas diárias de acúmulo (FIGURA 5) para o B ocorreram aos 61 DAT considerando a planta inteira, aos 62 DAT para as folhas e dos 65 aos 67 DAT para os ramos. Já para o Cu, ocorreram dos 55 aos 56 DAT somente considerando a planta inteira, sendo observado o mesmo comportamento para o Fe, ocorrendo aos 67 DAT. Para os demais micronutrientes, as taxas diárias de acúmulo foram crescentes até o final do período avaliado.

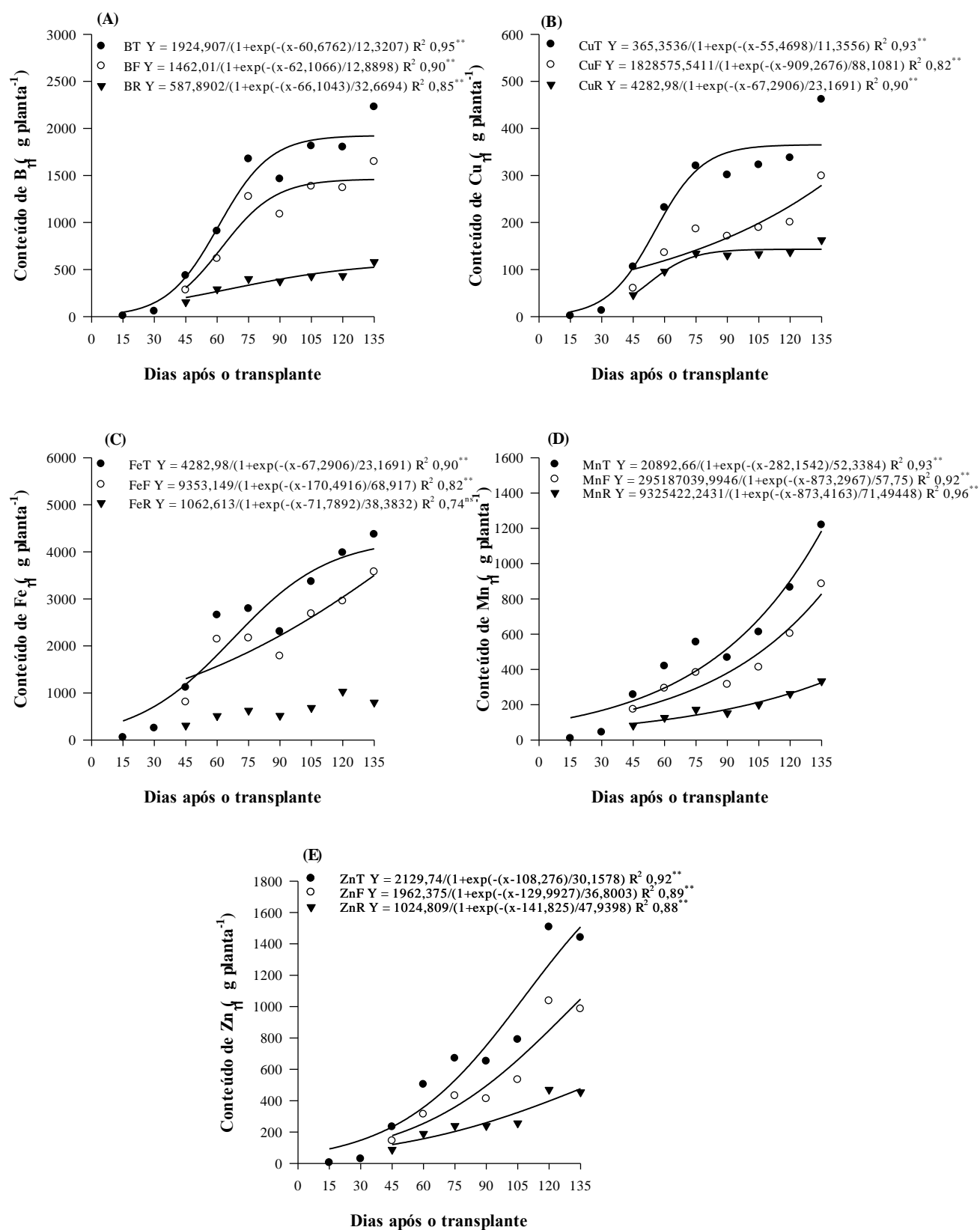


FIGURA 4. Conteúdo de B (A), Cu (B), Fe (C), Mn (D) e Zn (E) na planta inteira (folha+ramo), folhas e ramos de plantas de melissa, cultivada a campo.

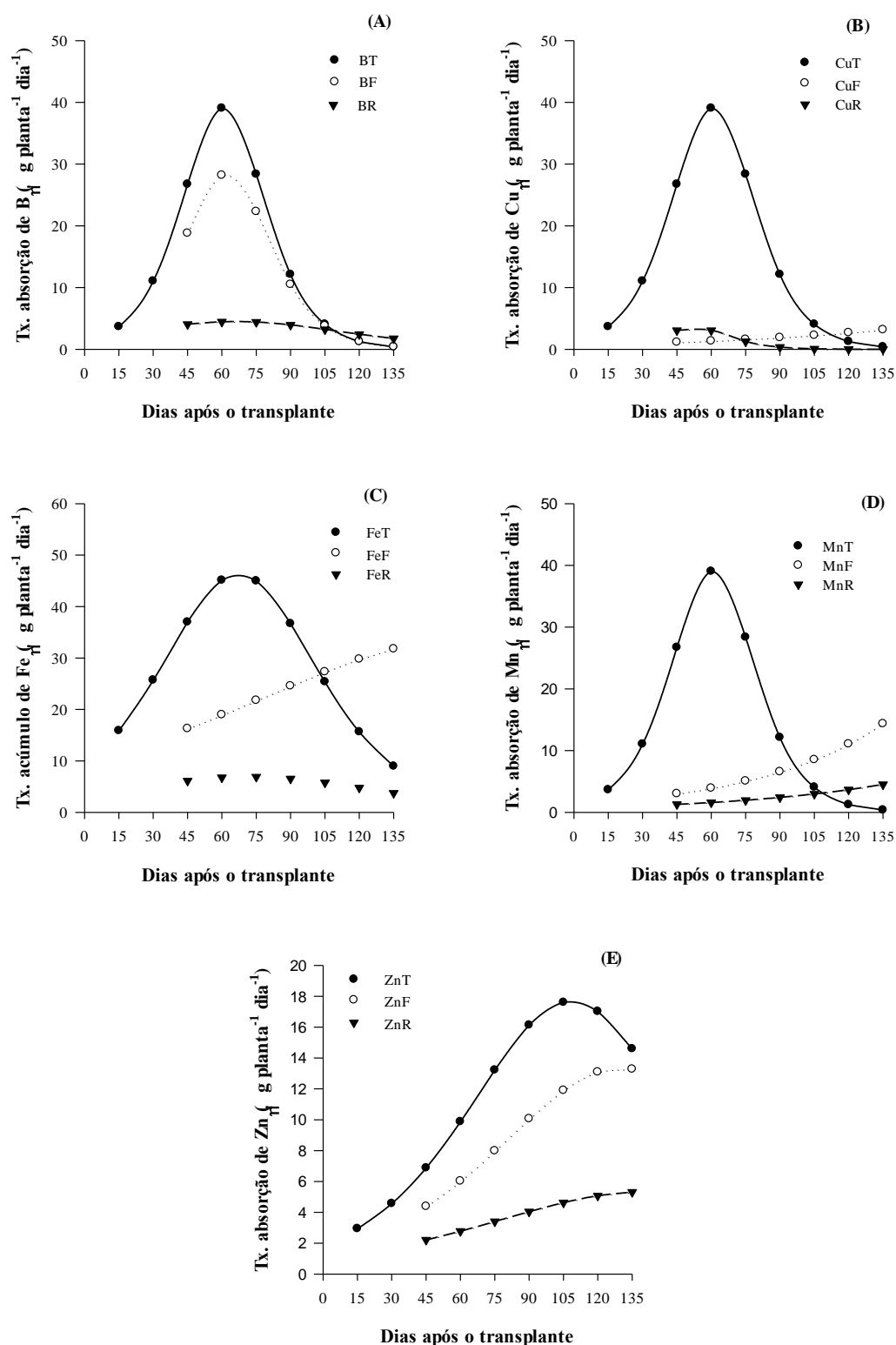


FIGURA 5. Taxas diárias de acúmulo de B (A), Cu (B), Fe (C), Mn (D) e Zn (E) na planta inteira (folha+ramo), folhas e ramos de plantas de melissa, cultivada a campo.

Em geral, foi observado maior acúmulo de nutrientes nas folhas do que nos ramos, isso é devido aos processos metabólicos das plantas se concentrarem mais nas folhas, como a fotossíntese, fazendo com que haja maior exigência dos mesmos nesses órgãos.

#### 1.4 CONCLUSÕES

1. O crescimento da melissa é lento até os 45 DAT, sendo que a partir desse período apresentou um rápido crescimento em função do aumento de folhas e ramos, atingindo a taxa máxima de crescimento absoluto aos 61 DAT.

2. O acúmulo e as taxas diárias de acúmulo de nutrientes na melissa são semelhantes ao da massa seca, com aumento dos 50 aos 90 DAT, diminuindo posteriormente até o final do período avaliado.

3. A sequência de acúmulo de nutrientes verificada para a melissa ocorre na seguinte ordem decrescente  $K > N > Ca > P > Mg > Fe > B > Zn > Mn > Cu$ , com valores de 55,6 ; 9,8; 67,9 ; 33,8 ; 8,8 kg ha<sup>-1</sup> de MS para os macronutrientes e; 286,3; 146,6; 111,3; 83,6 e 27,7 g ha<sup>-1</sup> de MS, para os micronutrientes, respectivamente.

4. As taxas máximas de acúmulo de nutrientes foram aos 42, 81, 54, 68, 61, 61, 55, 67, 135 e 107 DAT, para N, P, K, Ca, Mg, B, Cu, Fe, Mn e Zn respectivamente, mostrando o período de maior exigência dos nutrientes nas condições do presente trabalho.

#### 1.5 LITERATURA CITADA

- Amaral AS DO, Radünz LL, Mossi AJ, Santi A, Rosa NMFF DA, Feiten F. Rendimento de matéria seca e de óleo essencial de *Baccharis trimera* com adubação química e orgânica. *Revista de Ciências Agroveterinárias*. 2010; 9:20-28.
- Blank AF, Fontes SM, Oliveira A dos S, Mendonça M da C, Silva-Mann R, Arrigoni-Blank M de F. Produção de mudas, altura e intervalo de corte em melissa. *Horticultura Brasileira*. 2005; 23:780-784.
- COMISSÃO DE QUÍMICA E FERTILIDADE DO SOLO - RS/SC. Manual de adubação e calagem para os Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. 10ª ed. Porto Alegre, 2004.
- Corrêa Junior C, Scheffer MC. Produção de Plantas Medicinais, Condimentares e Aromáticas no Estado do Paraná. In: Corrêa Junior C, Graça LR, Scheffer MC. *Complexo agroindustrial das plantas medicinais, aromáticas e condimentares no estado do Paraná – Diagnóstico e Perspectivas*. 1ª ed. Emater: Curitiba. 2004.
- EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Sistema brasileiro de classificação de solos. 3.ed. Brasília; 2013.

- Echer FR, Dominato JC, Creste JE. Absorção de nutrientes e distribuição da massa fresca e seca entre órgãos de batata-doce. *Horticultura Brasileira*. 2009; 27:176-182.
- Franco C F, Prado R DE M, Braghirolli LF, Rozane DE. Curva de crescimento e marcha de absorção de macronutrientes em mudas de goiabeira. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*. 2007; 31:1429-1437.
- Haber LL, Luz JMQ, Arvatidóro LF, Santos JE. Diferentes concentrações de solução nutritiva para o cultivo de *Mentha Piperita* e *Melissa officinalis*. *Horticultura Brasileira*. 2005; 23:1006-1009.
- Lorenzi H, Matos FJA. Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 2002.
- Maia NB, Furlani AMC. Menta ou hortelã. In: Raij B, Cantarella H, Quaggio JA, Furlani AMC. (eds). *Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo*. 2. ed. Campinas: IAC, 1996, p.82 (Bolitim técnico 100).
- Malavolta E, Vitti G C, Oliveira SA. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. Piracicaba: POTAFÓS; 1997.
- Marques R, Motta ACV. Análise química do solo para fins de fertilidade. In: *Manual de diagnóstico da fertilidade e manejo dos solos agrícolas*. 2ª ed. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2003.
- Marschner, H. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. 3ª ed. San Diego: Academic Press. 2012.
- Martins APL, Reissmann CB. Material vegetal e as rotinas laboratoriais nos procedimentos químico-analíticos. *Scientia Agraria*. 2007; 8:1-17.
- Mauad M, Garcia RA, Silva RMMF, Silva TAF DA, Schroeder IM, Knudsen CH, Quaresma EVW. Produção de matéria seca e acúmulo de macronutrientes na parte aérea das plantas de niger. *Revista Brasileira de Ciência Solo*, 2015; 39:533-540.
- May A, Cecílio Filho AB, Porto DRQ, Vargas PF, Barbosa JC. Acúmulo de macronutrientes por duas cultivares de cebola produzidas em sistema de semeadura direta. *Horticultura Brasileira*. 2008; 25:53-59.
- Seidler-Lozykowska K, Bocianowski J, Król D. The evaluation of the variability of morphological and chemical traits of the selected lemon balm (*Melissa officinalis* L.) genotypes. *Industrial Crops and Products*. 2013; 49:515-520.
- Taiz L, Zeiger E. *Fisiologia vegetal*. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2009.
- Vaverková S, Mistríková I, Farkas P. Qualitative properties of *Melissa officinalis* after the application of Rastim 30 DKV. *Botanica Serbica*. 2012; 36:81-84.

## CAPÍTULO 2. DOSES DE NITROGÊNIO PARA A MÁXIMA PRODUTIVIDADE DE BIOMASSA DE *Melissa officinalis* L.

### RESUMO

A adubação é uma das práticas de grande importância no cultivo das plantas medicinais, em que ainda há poucas informações. Na melissa são realizadas várias colheitas durante uma mesma safra, e não existe nos manuais de adubação do Brasil, recomendação específica para esta cultura. As doses de nutrientes são baseadas em recomendações de outras plantas da mesma família. O nitrogênio é um dos nutrientes mais requeridos, e tem grande influência sobre o crescimento das plantas. O objetivo do trabalho foi estabelecer doses de nitrogênio que proporcionem a máxima produtividade de biomassa em *Melissa officinalis* L. para cada colheita dentro do mesmo ciclo de cultivo. Foram conduzidos a campo três experimentos, na Estação Experimental do Canguiri, da Universidade Federal do Paraná - UFPR – em Pinhais – PR. O delineamento utilizado foi em blocos ao acaso, onde os tratamentos constituíram de cinco doses de N em cobertura (0, 40, 80 120 e 160 kg ha<sup>-1</sup> de N), com cinco repetições cada. No primeiro experimento, os tratamentos foram aplicados aos 30 dias após o transplante (DAT) das mudas. No segundo experimento, foi realizada a adubação de cobertura com 30 kg ha<sup>-1</sup> de N aos 30 DAT, e os tratamentos foram aplicados após a primeira colheita. No terceiro experimento, foram aplicados 30 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura aos 30 DAT, e a mesma dose, imediatamente após a primeira colheita e os tratamentos foram aplicados após a segunda colheita. Os dados obtidos foram analisados quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett, e posteriormente por análise de variância e regressão. Na primeira colheita a adubação de plantio (20 kg ha<sup>-1</sup> N) foi suficiente para a máxima produtividade de melissa, enquanto na segunda e terceira colheitas, as doses de cobertura para a máxima produtividade foram de 105 e 77 kg ha<sup>-1</sup> N, respectivamente. Com exceção de N, a maioria dos nutrientes apresentou redução dos conteúdos com o aumento das doses de nitrogênio nas três colheitas. O conteúdo dos nutrientes na primeira e terceira colheita comportaram na seguinte ordem decrescente: K > N > Ca > P > Mg > Fe > B > Zn > Mn > Cu, enquanto que na segunda colheita o N foi maior que o K, obedecendo a seguinte ordem decrescente N > K > Ca > P > Mg > Fe > B > Zn > Mn > Cu.

Palavras-chave: Biomassa. Nitrogênio. Produtividade. Plantas medicinais.



## CHAPTER 2. RATES OF NITROGEN FOR THE MAXIMUM BIOMASS PRODUCTIVITY for *Melissa officinalis* L. IN EACH HARVEST WITHIN THE SAME CROP CYCLE

### ABSTRACT

Fertilization is one of the very important practices in the cultivation of plants, mainly medicinal plants, where there is a lack of information on the subject. For *Melissa officinalis* L., a species of great importance within the aromatic plants, the fertilizer recommendation is made with the information of the same family plants. In this sense, the aim of this study was to establish rates of nitrogen that provide maximum productivity of biomass in *Melissa officinalis* L. for each harvest within the same crop cycle. Three experiments were conducted in the field, at the Experimental Farm of the Federal University of Paraná, located in the city of Pinhais. Seedlings of lemon balm were purchased commercially and grown in pre-prepared beds. The design was a randomized block design, where the treatments were five rates of nitrogen (0, 40, 80, 120 and 160 kg ha<sup>-1</sup> N), with five repetitions each. In the first experiment, treatments were applied 30 days after transplanting (DAT). In the second experiment, the topdressing was held with 30 kg ha<sup>-1</sup> N at 30 DAT, and the treatments were applied after the first harvest. In the third experiment, the topdressing was held with 30 kg ha<sup>-1</sup> N at 30 DAT, and the same rate, immediately after the first harvest and the treatments were applied after the second harvest. Data were analyzed for homogeneity by the Bartlett test, then by analysis of variance and regression. In the first harvest transplant fertilization (20 kg ha<sup>-1</sup> N) was enough for maximum productivity lemon balm. The rate of 40 kg ha<sup>-1</sup> N applied in coverage was sufficient for maximum productivity lemon balm in the second and third harvest. Rates of 105 and 77 kg ha<sup>-1</sup> N applied soon after the second and third harvest, respectively, provided higher yields of lemon balm. The N concentration increased with the increase of N levels, while the phosphorus content decreased, the three harvests for both sheets and for the branches. Most nutrients decreased content with increasing N rates, with the exception of N, which increased content in three harvests. The nutrients accumulation in the first and third harvest behaved in the following descending order: K > N > Ca > P > Mg > Fe > B > Zn > Mn > Cu. The second harvest was noticed another behavior, being: N > K > Ca > P > Mg > Fe > B > Zn > Mn > Cu.

Key-words: Biomass. Nitrogen. Productivity. Medicinal plants.

## 2.1 INTRODUÇÃO

A *Melissa officinalis* L., conhecida como melissa, erva-cidreira verdadeira, chá de França, pertence à família Lamiaceae, originária da Ásia e Europa (Moradkhani et al., 2010; Seidler-Lozykowska et al., 2013) e há mais de um século é cultivada no Brasil (Meira et al., 2011).

A melissa é uma planta perene, porém seu cultivo em escala comercial é anual, e geralmente são realizadas três colheitas da parte aérea. Prefere climas temperados e não resiste a geadas e vento frio, se adapta melhor em lugares parcialmente sombreados, não tolerando o calor excessivo, prefere solo de textura média, ricos em matéria orgânica, úmidos, mas bem drenados (Lorenzi e Matos, 2002).

As plantas necessitam de nutrientes para seu desenvolvimento e sobrevivência. De acordo com o crescimento e desenvolvimento da planta, a necessidade nutricional varia (Taiz e Zeiger, 2009). Uns são exigidos em maior quantidade, considerados macronutrientes, e outros em menores quantidades, micronutrientes.

Na nutrição mineral de plantas, o nitrogênio (N) é um dos nutrientes mais estudados, devido a sua essencialidade e exigência em maior quantidade pelas plantas. Ele relaciona-se principalmente com o crescimento, fazendo parte de várias macromoléculas, tais como vitaminas, proteínas, aminoácidos, clorofila entre outras (Taiz e Zeiger, 2009; Costa et al., 2014) e pode ser aplicado via adubação orgânica ou adubação mineral.

Na literatura são encontrados trabalhos utilizando tanto a adubação orgânica quanto a adubação mineral, principalmente quando se refere à adubação nitrogenada e sua influência na família Lamiaceae. Ao se tratar de adubação nitrogenada em plantas desta família, há trabalhos com amplitude de 20 a 300 kg ha<sup>-1</sup> de N como as doses que proporcionam a maior produtividade (Oliveira et al., 2003; Sifola et al., 2006; May et al., 2010; Deschamps et al., 2012).

No cultivo de *Salvia sclarea* L., as doses de 80 a 120 kg ha<sup>-1</sup> de N fracionadas, aumentaram significativamente o crescimento das plantas (Yaseen et al., 2014). A aplicação de 160 kg ha<sup>-1</sup> de N no plantio, proporcionou maior aumento de biomassa fresca e seca em *Ocimum basilicum* L. (Frabboni et al., 2011). Costa et al. (2014), concluíram que a aplicação de 100 Kg ha<sup>-1</sup> de N no plantio e 98 Kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio na manutenção proporcionaram maiores ganhos de massa seca foliar no cultivo de patchouli. Para *Melissa officinalis* L., maiores rendimentos de massa seca foram obtidos com a aplicação de 180 kg ha<sup>-1</sup> de N parcelado, aplicado a lanço, após cada colheita (May et al., 2008).

Ao avaliar diferentes doses dos adubos orgânicos (bovino e aves) no crescimento de plantas *Origanum vulgare* L., Corrêa et al. (2010) observaram aumento na biomassa seca de orégano com doses de 10,1 kg m<sup>-2</sup> e 3,86 kg m<sup>-2</sup> de esterco bovino e de aves, respectivamente. Wolanski e Carvalho (2006), comparando os efeitos de diferentes níveis de adubação orgânica sobre o crescimento e desenvolvimento de melissa, concluíram que a dose 100 kg m<sup>-3</sup> de húmus apresentou as melhores respostas tanto na altura das plantas quanto no peso das matérias fresca e seca. Ao demonstrar o efeito da adubação orgânica (esterco bovino) e biofertilizante comercial na cultura da melissa, Santos et al. (2009) concluíram que as maiores doses de esterco bovino resultaram em um maior desenvolvimento das plantas.

A adubação orgânica, além de fornecer nutrientes para as plantas, proporciona melhoria da estrutura física do solo, aumenta a retenção de água, diminui as perdas por erosão, favorece o controle biológico devido à maior população microbiana, entre outros benefícios (Oliveira et al., 2002; Severino et al., 2004). Porém a grande dificuldade em recomendar a adubação orgânica, está em saber qual dos nutrientes que compõe o adubo orgânico está influenciando ou interferindo na produtividade da planta, geralmente a concentração de nutrientes no adubo orgânico é relativamente baixa, fazendo com que sejam realizadas aplicações frequentes e/ou em grandes volumes.

Na adubação mineral ou sintética, os nutrientes geralmente estão prontamente disponíveis para as plantas, o nutriente está concentrado, se utilizam pequenas quantidades de adubo, e com isso a recomendação é facilitada. Porém são poucas as informações encontradas na literatura sobre este tipo de adubação em plantas medicinais (Blank et al., 2006), principalmente relacionada a melissa. Por isso, ainda não há recomendação de adubação específica para esta cultura, utilizando-se a adubação recomendada nos manuais para a família Lamiaceae (hortelã e menta).

O objetivo do trabalho foi determinar as doses de nitrogênio para a obtenção de máxima produtividade de biomassa e óleo essencial de *Melissa officinalis* L., para colheitas realizadas no mesmo ciclo de cultivo.

## 2.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2.1 Área experimental

O experimento foi realizado a campo, no Núcleo Temático em Horticultura (Setor de Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares) na Fazenda Experimental do Canguiri da

Universidade Federal do Paraná – UFPR, no Município de Pinhais, região Metropolitana de Curitiba - PR, a 25°23' latitude Sul e 49°07' longitude Oeste, com altitude de 930 metros. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Cfb mesotérmico úmido sem estação seca definida, com geadas frequentes no inverno, com temperatura média do mês mais quente inferior a 22°C. O solo é caracterizado como Cambissolo Háplico (EMBRAPA, 2013), onde foram coletadas amostras na profundidade de 0-0,2 m para a realização de análises para caracterização química, conforme Marques e Motta (2003) e granulométrica (TABELAS 1 e 2).

TABELA 1. Atributos químicos do solo na área dos experimentos, na profundidade de 0-0,2 m.

pH		Al	H+Al	Ca	Mg	K	P	C
CaCl <sub>2</sub>	SMP		..... cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> .....				..... g dm <sup>-3</sup> .....	
5,5	6,2	0	4,3	8,5	3,5	0,86	27,5	100,6

TABELA 2. Atributos granulométricos do solo na área dos experimentos, na profundidade de 0-0,2 m.

Argila	Silte	Areia Total	Areia Grossa	Areia Fina
		..... g kg <sup>-1</sup> .....		
525	150	325	141	184

### 2.2.2 Instalação e condução do experimento

As mudas de melissa foram adquiridas comercialmente (produzidas a partir de sementes da marca Feltrin<sup>®</sup>) e transplantadas no espaçamento de 0,3 x 0,3 m, em canteiros previamente preparados, com 1,2 m de largura. Na adubação de plantio, seguiu-se a recomendação para hortelã e menta (Maia e Furlani, 1996), pertencentes à mesma família da melissa, aplicando 20 kg ha<sup>-1</sup> de N, 40 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 30 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, na forma de ureia, supertriplo e cloreto de potássio, respectivamente, incorporados ao solo. O cultivo foi conduzido com sistema de irrigação por gotejamento, instalando fitas de gotejo ao longo dos canteiros. Para a cobertura dos mesmos utilizou-se mulching plástico (20 µ).

Foram conduzidos três experimentos, simultaneamente, entre os meses de outubro/2014 a abril/2015, em blocos ao acaso, onde os tratamentos constituíram de cinco doses de N em cobertura (0, 40, 80, 120 e 160 kg ha<sup>-1</sup> de N), com cinco repetições cada. Cada parcela foi composta por 20 plantas (FIGURA 1A), disposta em quatro linhas de cinco plantas

cada. Como parcela útil para as determinações, utilizaram-se as seis plantas centrais de cada parcela (FIGURA 1B).



FIGURA 1. Vista do canteiro de melissa na colheita (A) e detalhe da parcela útil (B).

No primeiro experimento, os tratamentos (doses de N) foram aplicados aos 30 dias após o transplante (DAT) das mudas, conforme época recomendada por Maia e Furlani, (1996) A colheita foi realizada aos 60 DAT, depois de verificado visualmente o fechamento do canteiro pelas plantas (FIGURA 2).



FIGURA 2. Fechamento dos canteiros pelas plantas de melissa, momento da colheita.

No segundo experimento, foi realizada a adubação de cobertura com 30 kg ha<sup>-1</sup> de N (Maia e Furlani, 1996) aos 30 DAT, em todas as parcelas. Aos 60 DAT, foi realizada a colheita de todo o experimento e logo esta colheita (primeira colheita), foram aplicadas as doses de N correspondentes aos tratamentos. A colheita foi realizada aos 100 DAT, conforme o critério do primeiro experimento.

No terceiro experimento, foi aplicado em todas as parcelas 30 kg ha<sup>-1</sup> de N (Maia e Furlani, 1996), aos 30 DAT. Aos 60 DAT foi realizada uma colheita (primeira colheita) de todo o experimento e logo após foi realizada a adubação de cobertura com 30 kg ha<sup>-1</sup> de N (Maia e Furlani, 1996), em todas as parcelas. Aos 100 DAT, foi realizada nova colheita (segunda colheita) de todo o experimento e logo após os tratamentos (doses de N) foram aplicados. A colheita foi realizada aos 170 DAT, conforme o critério do primeiro experimento.

### 2.2.3 Variáveis analisadas

As variáveis analisadas foram massa seca total (MST), massa de seca de folha (MSF), massa seca de ramo (MSR), teor e conteúdo dos nutrientes nitrogênio (N), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), boro (B), cobre (Cu), ferro (Fe), manganês (Mn) e zinco (Zn) nas folhas e ramos, e calculada a dose de máxima eficiência técnica (DMET).

Para os rendimentos de massa fresca e seca tanto total e de folha, colheu-se a parte aérea, através de cortes realizados a uma altura de 10 cm acima do solo. Após a colheita, o material foi pesado para a obtenção da massa fresca total, e posteriormente separado em folha e ramos para se obter a massa fresca dos mesmos. Em seguida o material foi levado para secar em estufa de circulação forçada de ar a 65°C até atingirem massa constante, onde se obteve a massa seca por diferença. O material seco foi trituradas em partículas com diâmetro inferior a 1 mm em moinho Willey para análise dos nutrientes.

Foi realizada extração dos nutrientes da planta por digestão ácida (Martins e Reissmann, 2007), e posterior determinação dos teores de P, K, Ca, Mg, B, Cu, Fe, Mn e Zn por espectrofotometria de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado. A análise de nitrogênio (N-total) foi efetuada por combustão em analisador CHONS, marca ELEMENTAR, modelo VARIO EL III. As análises foram realizadas no Laboratório de Biogeoquímica e Nutrição de Plantas, do Departamento de Solos e Engenharia Agrícola, Setor de Ciências Agrárias (UFPR).

O conteúdo dos nutrientes em cada parte da planta foi obtido pelo produto entre o teor do elemento e a massa da matéria seca correspondente. O conteúdo total de nutrientes em cada época avaliada correspondeu ao somatório das quantidades presentes nas folhas e nos ramos.

A dose máxima eficiência técnica (DMET) foi obtida por meio da derivada primeira da equação expressa pela regressão, que se refere à máxima produtividade de melissa em relação aos tratamentos aplicados.

#### 2.2.4 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett, e posteriormente por análise de variância e regressão.

### 2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 2.3.1 Produtividade

Na primeira colheita não foi verificado o efeito significativo das doses de N na produtividade de MST, MSF e MSR (FIGURA 3). A produtividade média de MST foi de  $1.878 \text{ kg ha}^{-1}$ . A maior parte da massa total (em torno de 70%) foi composta de folhas, cuja produtividade média de MSF  $1.265 \text{ kg ha}^{-1}$ .

Os resultados obtidos na primeira colheita são justificados pela desuniformidade das parcelas, uma vez que a colheita ocorreu aos 60 DAT. Durante este período, as plantas utilizam parte do N para a formação do sistema radicular (dreno preferencial de fotoassimilados) e fixação no solo, não investindo em parte aérea (Pace et al., 1999; Cabral et al., 2013). Além disso, a adubação de plantio ( $20 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$ ) pode ter sido suficiente para suprir a demanda das plantas, assim, não verificando o efeito das doses em relação à produtividade.

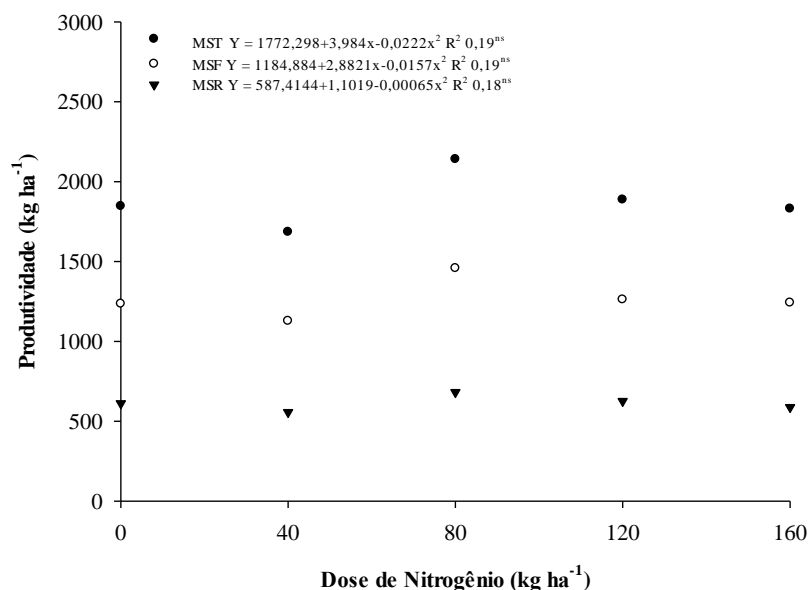


FIGURA 3. Produtividade de massa seca total (MST) da parte aérea (folha+ramo), massa seca de folha (MSF), massa seca de ramo (MSR), de melissa, na primeira colheita.

A aplicação de N na segunda colheita apresentou efeito significativo sobre a produtividade de MST, MSF e MSR (FIGURA 4), porém aumentou até as DMET de 105, 110 e 98 kg ha<sup>-1</sup> de N, respectivamente, que resultaram em produtividades de 2.889, 1.757 e 1.128 kg ha<sup>-1</sup>, respectivamente.

A contribuição das folhas na massa seca total da planta ficou próxima dos 60%, um pouco abaixo do observado na primeira colheita, que foi próximo a 70%. Como o objetivo do segundo experimento foi avaliar a adubação nitrogenada de cobertura após a primeira colheita, essa primeira colheita influenciou na uniformidade das plantas que, juntamente com a adubação nitrogenada proporcionou aumento no número de ramos, resultando no aumento da produtividade de massa das plantas (May et al., 2010; Meira et al., 2011). Na segunda colheita o tempo de cultivo foi maior (100 DAT), onde a cultura já estava plenamente estabelecida, o que também favorece o aumento da MST. Resultado semelhante foi encontrado por Monteiro et al. (2011) no cultivo de *Mentha campestres*, em que a segunda colheita (90 DAT) proporcionou as maiores produtividades.



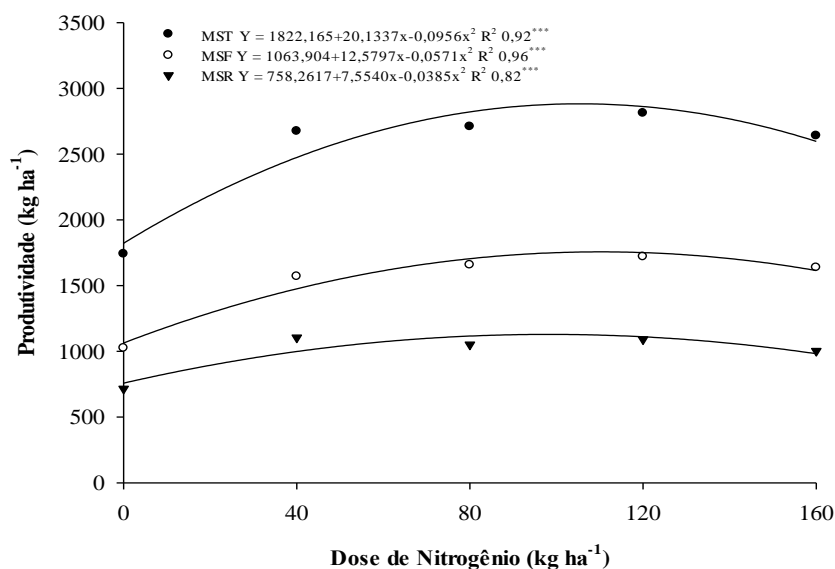


FIGURA 4. Produtividade de massa seca total (MST) da parte aérea (folha+ramo), massa seca de folha (MSF) e massa seca de ramo (MSR) de melissa, na segunda colheita.

Na terceira colheita (FIGURA 5), a produtividade de MST aumentou até a aplicação de 76 kg ha<sup>-1</sup> de N, para uma produtividade de 4.051 kg ha<sup>-1</sup>, o que corresponde a 20.255 kg ha<sup>-1</sup> de MFT. Não se verificou efeito significativo da aplicação de N sobre a MSF, porém a produtividade média da e da MSF com a aplicação de N foi de 1.941 kg ha<sup>-1</sup>, ou seja, 15% superior ao tratamento testemunha (sem aplicação de N). A produtividade de MSR aumentou até a aplicação de 77 kg ha<sup>-1</sup> de N, comportamento próximo ao da MST, correspondendo a 1.894 kg ha<sup>-1</sup>.

A maior dose de N avaliada (160 kg ha<sup>-1</sup>) proporcionou expressiva redução da produtividade de MFT e MST (FIGURA 5). Esse comportamento pode estar relacionado ao nitrogênio interferir ou reduzir a absorção de outros nutrientes essenciais para as plantas como o K, Ca e Mg (Marschner, 2012), conforme foi observado por Souza e Fernandes (2006) em experimento com mistura de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: NO<sub>3</sub><sup>-</sup> no cultivo de feijão, repolho, melão e milho, os quais tiveram a redução do peso das folhas secas devido ao aumento na concentração de NH<sub>4</sub><sup>+</sup> em relação ao NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

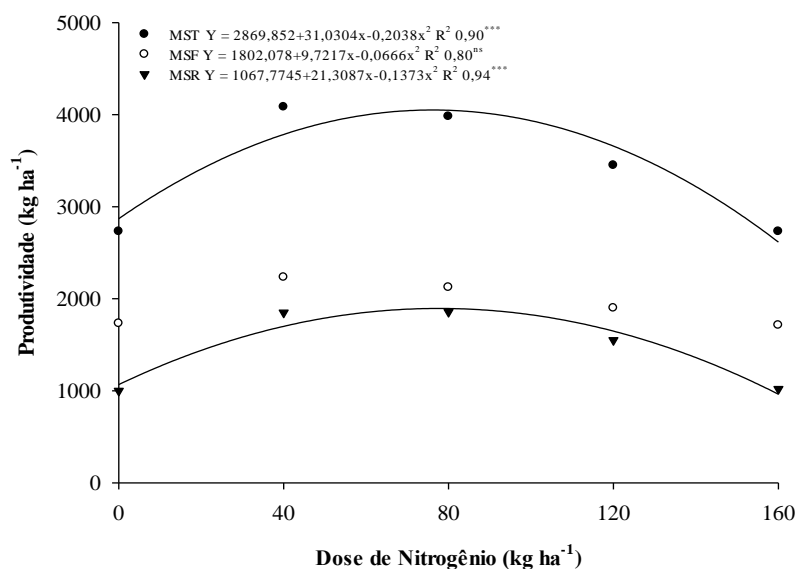


FIGURA 5. Produtividade de massa seca total (MST) da parte aérea (folha+ramo), massa seca de folha (MSF) e massa seca de ramo (MSR) de melissa, na terceira colheita.

### 2.3.2 Teor e conteúdo dos nutrientes

As folhas apresentaram, em geral, os maiores teores dos macro e micronutrientes com exceção do K, que foi maior para os ramos, nas três colheitas. Na primeira colheita não foi verificado efeito das doses de N para os teores dos macronutrientes nas folhas e nos ramos. Porém, na segunda e terceira colheitas, as folhas apresentaram aumento nos teores de N e Mg (TABELAS 3 e 4), e redução dos teores de P e K, respectivamente. Nos ramos houve redução dos teores de P e Ca na segunda colheita, enquanto que na terceira colheita houve aumento nos teores de N e redução nos teores de P.

TABELA 3. Teor médio<sup>1</sup> dos macronutrientes nas folhas e ramos de melissa da segunda colheita.

Macronutriente g kg <sup>-1</sup> MS	Dose de N (kg ha <sup>-1</sup> )					R <sup>2</sup>
	0	40	80	120	160	
FOLHA						
N	27,96	30,94	34,14	34,81	36,03	L 0,92 <sup>**</sup>
P	2,52	2,46	2,37	2,30	2,41	Q 0,85 <sup>ns</sup>
K	21,21	20,90	20,42	20,50	20,05	L 0,91 <sup>**</sup>
Ca	8,69	9,46	9,19	9,29	9,70	Q 0,62 <sup>ns</sup>
Mg	2,33	2,73	2,79	2,80	2,86	L 0,71 <sup>**</sup>
RAMO						
N	8,69	8,88	8,69	8,72	8,76	Q 0,03 <sup>ns</sup>
P	2,01	1,89	1,73	1,79	1,71	L 0,78 <sup>**</sup>
K	20,75	20,93	21,95	21,36	21,95	Q 0,68 <sup>ns</sup>
Ca	4,86	4,47	4,33	4,44	4,53	Q 0,95 <sup>**</sup>
Mg	1,45	1,09	1,13	1,13	1,15	Q 0,79 <sup>ns</sup>

<sup>1</sup>Média de cinco repetições;  $p < 0,05$ ; ns: não significativo; L: equação linear; Q: equação quadrática.

TABELA 4. Teor médio<sup>1</sup> dos macronutrientes nas folhas e ramos de melissa da terceira colheita.

Macronutriente g kg <sup>-1</sup> MS	Dose de N (kg ha <sup>-1</sup> )					R <sup>2</sup>
	0	40	80	120	160	
FOLHA						
N	27,58	27,87	30,95	32,21	32,02	L 0,86**
P	3,74	3,14	2,71	2,75	3,00	Q 0,99**
K	41,54	40,53	39,15	38,83	38,53	L 0,92**
Ca	7,03	7,34	7,3	7,01	7,67	Q 0,36 <sup>ns</sup>
Mg	1,73	1,79	1,81	1,82	1,79	Q 0,99**
RAMO						
N	10,55	11,21	13,63	15,96	14,62	L 0,80**
P	2,54	2,19	2,00	2,04	2,14	Q 0,99**
K	35,15	33,13	35,85	39,5	38,75	Q 0,69 <sup>ns</sup>
Ca	4,02	3,8	4,08	4,03	4,32	Q 0,74 <sup>ns</sup>
Mg	1,02	1,00	1,03	1,06	1,07	Q 0,85 <sup>ns</sup>

<sup>1</sup>Média de cinco repetições;  $p < 0,05$ ; ns: não significativo; L: equação linear; Q: equação quadrática.

O N devido à sua essencialidade e ser requerido em grande quantidade atua diretamente no crescimento das plantas, compõem diversas macromoléculas (proteínas, aminoácidos, clorofila entre outras) (Taiz e Zeiger, 2009; Souza e Fernandes, 2006). Com o aumento das doses de N, aumentou a sua concentração no solo, favorecendo a sua maior disponibilidade e absorção em relação aos outros nutrientes, devido à ocupação da maioria dos sítios de absorção não específicos, aumentando assim o seu teor na planta.

O Mg está envolvido na ativação de inúmeras enzimas, principalmente as envolvidas na respiração, fotossíntese e síntese de DNA e RNA (Taiz e Zeiger, 2009). Também tem grande importância devido ser um nutriente considerado como átomo central da clorofila, que do total de Mg nas folhas, corresponde a cerca de 10% (Malavolta et al., 1997), dessa maneira observou o maior teor de Mg nas folhas em relação aos ramos. Os estímulos à produtividade de massa seca com o aumento das doses de N (item 2.3.1) podem ter favorecido o aumento nos teores de Mg nas folhas, pois ambos estão envolvidos nos processos fotossintéticos e quanto mais massa foliar a planta produzir maior tende a ser a necessidade de Mg para suprir as necessidades bioquímicas da planta.

A redução nos teores de P, K e de Ca com o aumento das doses de N, resultaram no efeito de diluição destes elementos em função do aumento da massa seca, podendo estar relacionada também com a acidificação da rizosfera provocada pelo  $\text{NH}_4^+$ , onde altas concentrações interferem ou reduzem a absorção desses nutrientes que também são essenciais para as plantas (Araújo e Machado, 2006; Souza e Fernandes 2006; Prado, 2008; Marschner, 2012). No caso do P essa redução está ligada com a disponibilidade de P no solo, pois quando há absorção de N na forma de  $\text{NH}_4^+$  pelas plantas há liberação de  $\text{H}^+$ , fazendo com que o pH do solo reduza, uma vez que o pH ideal para promover maior disponibilidade de P na solução do solo é de 6,5, ocorrendo maior absorção pela planta. Já para o K e Ca seria em relação à competição pelos sítios de troca, uma vez que o  $\text{NH}_4^+$  é um cátion monovalente podendo competir com os demais cátions, o que facilmente ocorre na adubação de manutenção quando há utilização de grande quantidade de N.

O teor médio dos macronutrientes entre os tratamentos comportou-se na seguinte ordem decrescente para as folhas:  $\text{N} > \text{K} > \text{Ca} > \text{P} > \text{Mg}$  na primeira colheita,  $\text{N} > \text{K} > \text{Ca} > \text{Mg} > \text{P}$  na segunda colheita e  $\text{K} > \text{N} > \text{Ca} > \text{P} > \text{Mg}$  na terceira colheita. Para os ramos o comportamento foi semelhante nas três colheitas, seguindo a ordem decrescente  $\text{K} > \text{N} > \text{Ca} > \text{P} > \text{Mg}$ .

Dentre os micronutrientes, somente foi verificado efeito do aumento das doses de N na redução dos teores de B nas folhas e nos ramos na primeira colheita (FIGURA 6A e 6B), redução dos teores de B nas folhas e de Cu nos ramos na segunda colheita (TABELA 5) e, redução nos ramos dos teores de Zn na terceira colheita (TABELA 6). Esta ausência de efeito da adubação nitrogenada pode ser consequência da variabilidade das plantas ocorridas nas parcelas, conforme discutido para a produtividade de massa seca (Item 2.3.1).

Diversos fatores podem influenciar a disponibilidade do B no solo, entre eles o pH, o qual deve ser mais básico (entre 8 e 9), e com o aumento das doses de N pode ter ocasionado acidificação do solo (absorção de  $\text{NH}_4^+$  pelas plantas há liberação de  $\text{H}^+$  no solo, reduzindo pH), diminuindo a disponibilidade do B no solo reduzindo o teor nas folhas, em contrapartida, essa acidificação do solo ocasionou a disponibilidade do Cu, os quais são mais disponíveis em pH ácido, consequentemente aumentou o teor nas folhas (Dechen e Nachtigall, 2006).

Assim como ocorreu para o K e Ca, a redução do Zn pode estar associada a competição de cargas entre os elementos no solo, visto que o Zn apresentou uma redução significativa com o aumento das doses de N (Souza e Fernandes, 2006) e também ao efeito de diluição em função do aumento de massa seca e redução dos teores na planta.

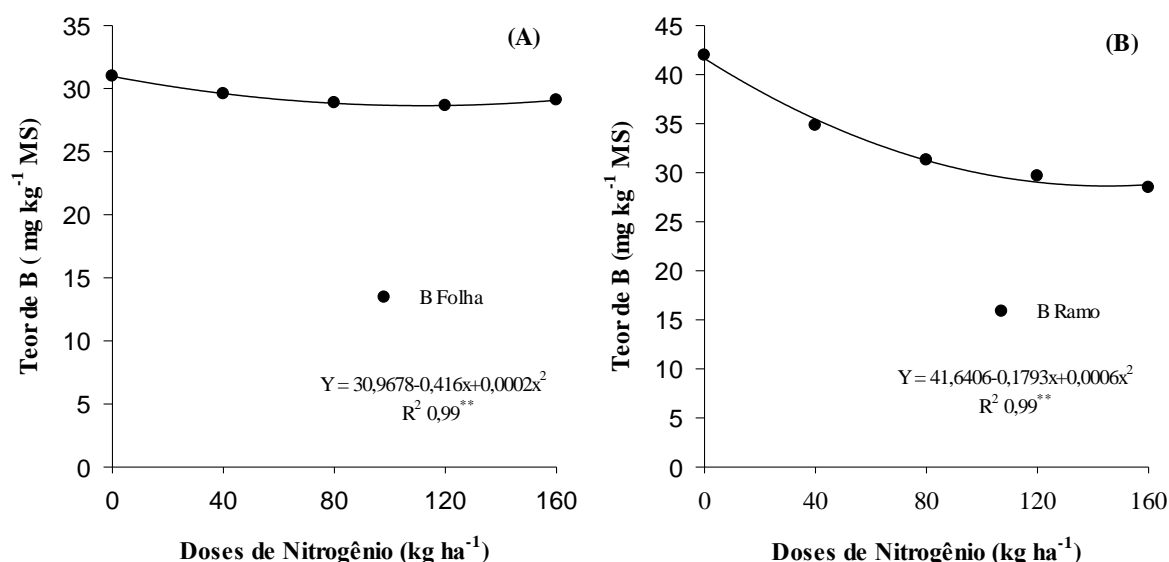


FIGURA 6. Teor médio de B na massa seca de folhas (A) e de ramos (B) de melissa, na primeira colheita.

TABELA 5. Teor médio<sup>1</sup> dos micronutrientes nas folhas e ramos de melissa da segunda colheita.

Micronutriente mg kg <sup>-1</sup> MS	Dose de N (kg ha <sup>-1</sup> )					R <sup>2</sup>
	0	40	80	120	160	
FOLHA						
B	47,98	44,42	43,16	43,27	43,44	Q 0,96 <sup>**</sup>
Cu	6,31	7,36	6,78	6,07	6,96	Q 0,01 <sup>ns</sup>
Fe	91,79	103,49	95,78	93,61	101,23	Q 0,08 <sup>ns</sup>
Mn	11,66	11,34	12,30	17,05	14,15	Q 0,51 <sup>ns</sup>
Zn	19,14	17,64	17,78	16,24	17,21	Q 0,80 <sup>ns</sup>
RAMO						
B	26,38	25,28	24,97	25,98	25,80	Q 0,58 <sup>ns</sup>
Cu	5,31	4,95	4,89	4,52	4,36	L 0,96 <sup>**</sup>
Fe	24,99	26,18	24,71	27,68	28,86	L 0,79 <sup>ns</sup>
Mn	6,66	6,75	6,15	7,27	7,72	Q 0,77 <sup>ns</sup>
Zn	16,73	16,97	13,00	17,24	12,58	Q 0,31 <sup>ns</sup>

<sup>1</sup>Média de cinco repetições;  $p < 0,05$ ; ns: não significativo; L: equação linear; Q: equação quadrática.

TABELA 6. Teor médio<sup>1</sup> dos micronutrientes nas folhas e ramos de melissa da terceira colheita.

Micronutriente mg kg <sup>-1</sup> MS	Dose de N (kg ha <sup>-1</sup> )					R <sup>2</sup>
	0	40	80	120	160	
FOLHA						
Cu	7,40	7,23	6,86	7,77	7,17	Q 0,03 <sup>ns</sup>
Fe	74,54	75,61	85,96	79,93	85,22	Q 0,63 <sup>ns</sup>
Mn	12,46	15,42	18,03	20,27	16,07	Q 0,87 <sup>ns</sup>
Zn	25,27	25,62	20,49	22,83	21,32	Q 0,58 <sup>ns</sup>
RAMO						
Cu	5,95	5,91	5,08	5,29	5,18	Q 0,76 <sup>ns</sup>
Fe	25,12	21,65	22,86	24,94	25,31	Q 0,61 <sup>ns</sup>
Mn	6,18	6,95	7,82	9,66	7,86	Q 0,72 <sup>ns</sup>
Zn	27,30	19,62	16,10	18,29	20,59	Q 0,96 <sup>**</sup>

<sup>1</sup>Média de cinco repetições;  $p < 0,05$ ; ns: não significativo; L: equação linear; Q: equação quadrática.

O aumento das doses de N influenciou no aumento dos conteúdos de N nas três colheitas e reduziu os conteúdos de Ca e Mg na primeira colheita, P e Ca na segunda colheita e P e Mg na terceira colheita (TABELAS 7, 8 e 9). A redução dos conteúdos de P, Ca e Mg pode estar envolvida com o efeito de diluição, com a mobilidade do nutriente na planta (Ca imóvel na planta), com taxa de absorção afetada por outros cátions (são afetadas pela absorção de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) ou a disponibilidade e pH no solo (Vitti et al., 2006; Prado, 2008). Não

foi observado efeito de diluição para os macronutrientes devido aos altos e positivos coeficientes de correlação apresentados para os mesmos, e com exceção do K, todos os outros nutrientes acumularam-se mais nas folhas, onde os processos metabólicos da planta são mais intensos.

Nos micronutrientes, o aumento das doses de N influenciou na redução dos conteúdos de B, Cu, Fe e Zn na primeira colheita, e somente de Cu na segunda e terceira colheitas (TABELAS 7, 8 e 9). Esta redução do conteúdo desses micronutrientes por tonelada de material fresco Assim como observados para os teores verificou o efeito de diluição com o aumento das doses de N e redução do conteúdo de B, Cu, Fe e Zn, não sendo observada correlação entre a massa fresca produzida e os micronutrientes na planta.

TABELA 7. Conteúdo médio<sup>1</sup> dos macro e micronutrientes na massa fresca total (folha+ramo), massa fresca de folhas e ramos de melissa da primeira colheita.

Nutriente	Dose de N (kg ha <sup>-1</sup> )					R <sup>2</sup>
	0	40	80	120	160	
PLANTA INTEIRA						
	kg t <sup>-1</sup> MF					
N	9,40	11,76	12,15	12,74	13,40	L 0,86 <sup>**</sup>
P	1,52	1,53	1,39	1,24	1,32	L 0,99 <sup>ns</sup>
K	18,66	18,90	17,37	15,50	17,64	Q 0,52 <sup>ns</sup>
Ca	3,32	3,31	2,99	2,78	2,84	L 0,86 <sup>**</sup>
Mg	0,60	0,62	0,57	0,53	0,54	L 0,75 <sup>**</sup>
	g t <sup>-1</sup> MF					
B	15,60	14,05	11,70	10,70	10,98	L 0,87 <sup>**</sup>
Cu	3,31	3,21	2,96	2,96	2,82	L 0,94 <sup>**</sup>
Fe	28,99	31,71	31,19	29,03	24,34	Q 0,99 <sup>**</sup>
Mn	5,85	6,46	6,14	5,06	6,32	Q 0,03 <sup>ns</sup>
Zn	7,84	7,80	7,01	6,77	6,67	L 0,90 <sup>**</sup>
FOLHA						
	kg t <sup>-1</sup> MF					
N	6,14	7,02	7,83	7,72	7,84	Q 0,97 <sup>**</sup>
P	0,79	0,76	0,80	0,70	0,70	Q 0,69 <sup>ns</sup>
K	6,98	6,55	7,18	7,01	6,90	Q 0,05 <sup>ns</sup>
Ca	1,86	1,73	1,80	1,65	1,62	L 0,80 <sup>**</sup>
Mg	0,32	0,32	0,34	0,31	0,30	Q 0,68 <sup>ns</sup>
	g t <sup>-1</sup> MF					
B	5,84	5,47	5,61	5,07	5,15	L 0,77 <sup>ns</sup>
Cu	1,34	1,29	1,44	1,26	1,25	Q 0,38 <sup>ns</sup>
Fe	18,97	20,87	22,43	20,88	17,04	Q 0,96 <sup>**</sup>
Mn	2,93	3,22	3,55	3,02	3,97	L 0,48 <sup>ns</sup>
Zn	3,66	3,55	3,85	3,46	3,31	Q 0,62 <sup>ns</sup>
RAMO						
	kg t <sup>-1</sup> MF					
N	3,26	4,74	4,32	5,02	5,56	L 0,80 <sup>**</sup>
P	0,73	0,77	0,59	0,54	0,61	Q 0,64 <sup>ns</sup>
K	11,67	12,35	10,19	8,49	10,74	L 0,37 <sup>ns</sup>
Ca	1,46	1,57	1,19	1,13	1,22	Q 0,61 <sup>ns</sup>
Mg	0,28	0,30	0,24	0,23	0,24	Q 0,62 <sup>ns</sup>
	g t <sup>-1</sup> MF					
B	9,76	8,58	6,09	5,63	5,82	L 0,83 <sup>**</sup>
Cu	1,97	1,92	1,52	1,70	1,57	L 0,65 <sup>**</sup>
Fe	10,02	10,83	8,76	8,16	7,30	L 0,81 <sup>**</sup>
Mn	2,91	3,24	2,60	2,04	2,34	Q 0,62 <sup>ns</sup>
Zn	4,18	4,25	3,17	3,30	3,36	Q 0,71 <sup>ns</sup>

<sup>1</sup>Média de cinco repetições;  $p < 0,05$ ; ns: não significativo; L: equação linear; Q: equação quadrática.



TABELA 8. Conteúdo médio<sup>1</sup> dos macro e micronutrientes na massa fresca total (folha+ramo), massa fresca de folhas e ramos de melissa da segunda colheita.

Nutriente	Dose de N (kg ha <sup>-1</sup> )					R <sup>2</sup>
	0	40	80	120	160	
PLANTA INTEIRA						
kg t <sup>-1</sup> MF						
N	6,68	7,21	8,21	8,73	9,27	L 0,98 <sup>**</sup>
P	0,90	0,78	0,73	0,73	0,73	Q 0,97 <sup>**</sup>
K	8,57	7,62	7,61	7,55	7,36	L 0,68 <sup>ns</sup>
Ca	2,60	2,44	2,36	2,40	2,52	Q 0,99 <sup>**</sup>
Mg	0,73	0,67	0,68	0,69	0,72	Q 0,80 <sup>ns</sup>
g t <sup>-1</sup> MF						
B	13,67	12,39	12,00	12,30	12,39	Q 0,89 <sup>ns</sup>
Cu	2,33	2,20	2,07	1,89	2,01	L 0,78 <sup>**</sup>
Fe	21,21	22,27	20,62	21,00	22,87	Q 0,39 <sup>ns</sup>
Mn	3,55	3,26	3,24	4,27	3,94	Q 0,48 <sup>ns</sup>
Zn	7,28	6,29	5,46	6,11	5,31	Q 0,78 <sup>ns</sup>
FOLHA						
kg t <sup>-1</sup> MF						
N	4,54	5,01	5,69	5,82	6,53	L 0,97 <sup>**</sup>
P	0,41	0,40	0,39	0,38	0,44	Q 0,73 <sup>ns</sup>
K	3,45	3,39	3,40	3,42	3,64	L 0,43 <sup>ns</sup>
Ca	1,42	1,53	1,53	1,55	1,75	L 0,79 <sup>**</sup>
Mg	0,38	0,44	0,47	0,47	0,52	L 0,90 <sup>**</sup>
g t <sup>-1</sup> MF						
B	7,17	7,23	7,21	7,25	8,01	L 0,56 <sup>ns</sup>
Cu	1,02	1,19	1,13	1,01	1,25	L 0,17 <sup>ns</sup>
Fe	15,01	16,89	15,92	15,64	17,94	Q 0,43 <sup>ns</sup>
Mn	1,92	1,85	2,05	2,85	2,64	L 0,72 <sup>ns</sup>
Zn	3,11	2,86	2,96	2,72	3,17	Q 0,58 <sup>ns</sup>
RAMO						
kg t <sup>-1</sup> MF						
N	2,13	2,21	2,52	2,91	2,73	L 0,81 <sup>**</sup>
P	0,49	0,38	0,33	0,35	0,29	L 0,82 <sup>**</sup>
K	5,12	4,24	4,20	4,12	3,72	L 0,80 <sup>**</sup>
Ca	1,18	0,91	0,83	0,86	0,77	L 0,74 <sup>ns</sup>
Mg	0,35	0,22	0,22	0,22	0,20	L 0,63 <sup>ns</sup>
g t <sup>-1</sup> MF						
B	6,50	5,17	4,79	5,05	4,38	L 0,74 <sup>ns</sup>
Cu	1,31	1,01	0,94	0,88	0,75	L 0,90 <sup>**</sup>
Fe	6,20	5,38	4,70	5,37	4,93	Q 0,73 <sup>ns</sup>
Mn	1,63	1,41	1,18	1,42	1,30	Q 0,66 <sup>ns</sup>
Zn	4,17	3,43	2,50	3,40	2,13	Q 0,65 <sup>ns</sup>

<sup>1</sup>Média de cinco repetições;  $p < 0,05$ ; ns: não significativo; L: equação linear; Q: equação quadrática.

TABELA 9. Conteúdo médio<sup>1</sup> dos macro e micronutrientes na massa fresca total (folha+ramo), massa fresca de folhas e massa fresca de ramos de melissa da terceira colheita.

Nutriente	Dose de N (kg ha <sup>-1</sup> )					R <sup>2</sup>
	0	40	80	120	160	
PLANTA INTEIRA						
	kg t <sup>-1</sup> MS					
N	6,80	6,95	7,66	7,97	8,13	L 0,94 <sup>**</sup>
P	1,30	0,96	0,88	0,81	0,87	Q 0,97 <sup>**</sup>
K	13,45	13,57	13,54	13,01	13,37	Q 0,25 <sup>ns</sup>
Ca	2,11	2,00	1,98	1,90	2,03	Q 0,82 <sup>ns</sup>
Mg	0,54	0,51	0,50	0,48	0,49	Q 0,95 <sup>**</sup>
	g t <sup>-1</sup> MS					
Cu	2,67	2,37	2,24	2,15	2,14	L 0,84 <sup>**</sup>
Fe	23,32	17,20	19,14	17,00	19,07	Q 0,71 <sup>ns</sup>
Mn	3,97	3,80	4,36	4,49	4,37	Q 0,66 <sup>ns</sup>
Zn	13,07	8,21	7,55	6,71	6,79	L 0,70 <sup>ns</sup>
	FOLHA					
	kg t <sup>-1</sup> MS					
N	4,81	4,66	4,98	5,09	5,55	L 0,79 <sup>**</sup>
P	0,67	0,51	0,46	0,44	0,52	Q 0,98 <sup>**</sup>
K	7,11	6,75	6,27	6,08	6,83	Q 0,84 <sup>ns</sup>
Ca	1,23	1,21	1,18	1,15	1,32	Q 0,71 <sup>ns</sup>
Mg	0,30	0,30	0,29	0,29	0,31	Q 0,72 <sup>ns</sup>
	g t <sup>-1</sup>					
Cu	1,30	1,19	1,14	1,20	1,25	Q 0,94 <sup>**</sup>
Fe	15,67	12,75	14,20	12,55	14,96	Q 0,58 <sup>ns</sup>
Mn	2,41	2,44	2,83	2,92	2,90	L 0,83 <sup>**</sup>
Zn	5,05	4,12	3,71	3,46	3,73	Q 0,99 <sup>**</sup>
	RAMO					
	kg t <sup>-1</sup> MS					
N	1,99	2,29	2,68	2,88	2,58	Q 0,62 <sup>ns</sup>
P	0,62	0,45	0,42	0,37	0,35	Q 0,96 <sup>**</sup>
K	6,35	6,82	7,27	6,93	6,54	Q 0,93 <sup>ns</sup>
Ca	0,87	0,79	0,80	0,75	0,71	L 0,90 <sup>**</sup>
Mg	0,24	0,21	0,21	0,19	0,18	L 0,92 <sup>**</sup>
	g t <sup>-1</sup> MS					
Cu	1,38	1,18	1,10	0,95	0,89	L 0,97 <sup>**</sup>
Fe	7,66	4,45	4,95	4,44	4,11	Q 0,79 <sup>ns</sup>
Mn	1,56	1,36	1,52	1,56	1,47	Q 0,02 <sup>ns</sup>
Zn	8,02	4,09	3,84	3,25	3,06	L 0,69 <sup>ns</sup>

<sup>1</sup>Média de cinco repetições;  $p < 0,05$ ; ns: não significativo; L: equação linear; Q: equação quadrática.

Dessa maneira, para a primeira e para a terceira colheitas, o acúmulo total ocorreu na seguinte ordem decrescente  $K > N > Ca > P > Mg > Fe > B > Zn > Mn > Cu$ , enquanto que na segunda colheita o N foi maior que o K, obedecendo a seguinte ordem decrescente  $N > K > Ca > P > Mg > Fe > B > Zn > Mn > Cu$ .

## 2.3 CONCLUSÕES

1. Na primeira colheita a adubação de plantio ( $20 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$ ) foi suficiente para a máxima produtividade de melissa, enquanto na segunda e terceira colheitas, as doses de cobertura para a máxima produtividade foram de 105 e  $77 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$ , respectivamente.

2. Com exceção de N, a maioria dos nutrientes apresentou redução dos conteúdos com o aumento das doses de nitrogênio nas três colheitas.

3. O conteúdo dos nutrientes na primeira e terceira colheita comportaram na seguinte ordem decrescente:  $K > N > Ca > P > Mg > Fe > B > Zn > Mn > Cu$ , enquanto que na segunda colheita o N foi maior que o K, obedecendo a seguinte ordem decrescente  $N > K > Ca > P > Mg > Fe > B > Zn > Mn > Cu$ .

## 2.4 LITERATURA CITADA

- Araújo AP, Machado CT de T. Fósforo. In: Fernandes MS. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Viçosa; 2006.
- Blank AF, Oliveira AS, Arrigoni-Blank MF, Faquin V. Efeitos da adubação química e da calagem na nutrição de melissa e hortelã-pimenta. Horticultura Brasileira. 2006; 24:195-198.
- Cabral CEA, Abreu JG DE, Bonfim-Silva EM, Cabral CHA, Scaramuzza JF, Silva TJA da. Eficiência de produção e concentração de nitrogênio nos capins marandu, decumbens e convert submetidos à adubação nitrogenada. Bioscience Journal. 2013; 29:1653-1663.
- Corrêa RM, Pinto JEBP, Reis ES, Costa LCB, Alves PB, Niculan ES, Brant RS. Adubação orgânica na produção de biomassa de plantas, teor e qualidade de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) em cultivo protegido. Revista Brasileira de Plantas Medicinais. 2010; 12:80-89.
- Costa AG, Deschamps C, Côcco LC, Scheer A DE P. Desenvolvimento vegetativo, rendimento e composição do óleo essencial do patchouli submetido a diferentes doses de nitrogênio no plantio e manutenção. Bioscience Journal. 2014; 30:387-392.
- Dechen AR, Nachtigall GR. Micronutrientes. In: Fernandes MS. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Viçosa; 2006.

- Deschamps C, Monteiro R, Machado MP, Bizzo H, Biasi LA. Produção de biomassa, teor e composição do óleo essencial de *Mentha x piperita* L. em resposta a fontes e doses de nitrogênio. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. 2012; 14:12-17.
- EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Sistema brasileiro de classificação de solos. 3.ed. Brasília; 2013.
- Frabboni L, Simone G, Russo, V. The influence of different nitrogen treatments on the growth and yield of basil (*Ocimum Basilicum* L.). *Journal of Chemistry and Chemical Engineering*. 2011; 5:799-803.
- Lorenzi H, Matos FJA. Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 2002.
- Maia NB, Furlani AMC. Menta ou hortelã. In: Raij B, Cantarella H, Quaggio JA, Furlani AMC. (eds). *Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo*, 2. ed. Campinas: IAC, 1996, p.82 (Bolitin técnico 100).
- Malavolta E, Vitti G C, Oliveira SA. Avaliação do estado nutricional das plantas: princípios e aplicações. Piracicaba: POTAFÓS; 1997.
- Marques R, Motta ACV. Análise química do solo para fins de fertilidade. In: *Manual de diagnóstico da fertilidade e manejo dos solos agrícolas*. 2ª ed. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2003.
- Marschner, H. Mineral Nutrition of Higher Plants. 3ª ed. San Diego: Academic Press. 2012.
- Martins APL, Reissmann CB. Material vegetal e as rotinas laboratoriais nos procedimentos químico-analíticos. *Scientia Agraria*. 2007; 8:1-17.
- May A, Bovi AO, Sacconi LV, Samra AG, Pinheiro MQ. Produtividade da biomassa de melissa em função de intervalo de cortes e doses de nitrogênio. *Horticultura Brasileira*. 2008; 26:312-315.
- May A, Suguino E, Martins NA, Pinheiro MQ. Produção de biomassa e óleo essencial de *Mentha citrata* em função do manejo cultural e adubação Nitrogenada. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*. 2010; 5:370-375.
- Meira MR, Manganotti AS, Martins ER. Crescimento e produção de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. nas condições climáticas de Montes Claros – MG. *Revista Biotemas*. 2011; 24:1-8.
- Monteiro R, Deschamps C, Biasi LA, Bizzo H. Desenvolvimento vegetativo de *Mentha campestris* Schur e produção de mentol em diferentes espaçamentos de plantio e épocas de colheita. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. 2011; 13:401-407.
- Moradkhani H, Sargsyan E, Bibak H, Naseri B, Sadat-Hosseini M, FAYAZI-BARJIN A, MEFTAHIZADE H. *Melissa officinalis* L., a valuable medicine plant: a review. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2010; 4:2753-2759.

- Oliveira VA, Lunkes JA, Argenta JA, Oliveira JA, Dias DR. Efeito da adubação mineral e orgânica sobre a produção de biomassa e óleo essencial de capim limão (*Cymbopogon citratus* Stapf). Pro Homine. 2002; 1:24-27.
- Oliveira AP, Paiva Sobrinho S, Barbosa JKA, Ramalho CI, Oliveira ALP. Rendimento de coentro cultivado com doses crescentes de N. Horticultura Brasileira. 2003; 21:81-83.
- Pace PF, Cralle HT, El-Halawany SHM, Cothren JT, Senseman SA. Drought-induced Changes in Shoot and Root Growth of Young Cotton Plants. The Journal of Cotton Science. 1999; 3:183-187.
- Prado R de M. Nutrição de Plantas. 1ª Ed. UNESP. São Paulo; 2008.
- Santos MF, Mendonça MC, Carvalho Filho JLS, Dantas IB, Silva-Mann R, Blank AF. Esterco bovino e biofertilizante no cultivo de erva-cidreira-verdadeira (*Melissa officinalis* L.). Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. 2009; 11:355-359.
- Seidler-Lozykowska K, Bocianowski J, Król D. The evaluation of the variability of morphological and chemical traits of the selected lemon balm (*Melissa officinalis* L.) genotypes. Industrial Crops and Products. 2013; 49:515-520.
- Severino LS, Costa FX, Beltrão NE de, Lucena MA de, Guimarães MMB. Mineralização da torta de mamona, esterco bovino e bagaço de cana estimada pela respiração microbiana. Revista de Biologia e Ciências da Terra. 2004; 5:20-26 2004.
- Sifola MI, Barbieri, G. Growth, yield and essential oil content of three cultivars of basil grown under different levels of nitrogen in the field. Scientia Horticulturae. 2006; 108:408-413.
- Souza SR, Fernandes MS. Nitrogênio. In: Fernandes MS. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Viçosa; 2006.
- Taiz L, Zeiger E. Fisiologia vegetal. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2009.
- Vitt GC, Lima E, Cicarone F. Cálcio, magnésio e enxofre. In: Fernandes MS. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo. Viçosa; 2006.
- Wolanski T, Carvalho RIN DE. Análise do crescimento e desenvolvimento da Melissa (*Melissa officinalis* L.) em diferentes níveis de adubação orgânica. Revista Acadêmica: Ciência Animal. 2006; 4:39-48.
- Yaseen M, Singh M, Ram D, Singh K. Production potential, nitrogen use efficiency and economics of clarysage (*Salvia sclarea* L.) varieties as influenced by nitrogen levels under different locations. Industrial Crops and Products. 2014; 54:86-91.

### **CAPÍTULO 3. ADUBAÇÃO NITROGENADA NA PRODUÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *Melissa officinalis* L.**

#### **RESUMO**

A *Melissa officinalis* L tem-se destacado entre as plantas medicinais e aromáticas principalmente pela produção de óleo essencial. Diversos trabalhos relatam divergências quanto à adubação nitrogenada na família Lamiaceae, na produtividade e qualidade do óleo essencial. O objetivo deste trabalho foi avaliar se a adubação nitrogenada altera a quantidade produzida e a qualidade do óleo essencial na *Melissa officinalis* L. Foram conduzidos a campo três experimentos, na Estação Experimental do Canguiri, da Universidade Federal do Paraná - UFPR – em Pinhais – PR. Em cada experimento o delineamento utilizado foi em blocos ao acaso, onde os tratamentos constituíram de cinco doses de N em cobertura (0, 40, 80 120 e 160 kg ha<sup>-1</sup> de N), com três repetições cada. No primeiro experimento, os tratamentos foram aplicados aos 30 dias após o transplante (DAT) das mudas. No segundo experimento, foi realizada a adubação de cobertura com 30 kg ha<sup>-1</sup> de N aos 30 DAT, e os tratamentos foram aplicados após a primeira colheita a fim de avaliar os efeitos da adubação de cobertura na segunda colheita. No terceiro experimento, foram aplicados 30 kg ha<sup>-1</sup> de N em cobertura aos 30 DAT, e a mesma dose, imediatamente após a primeira colheita e os tratamentos foram aplicados após a segunda colheita, avaliando os efeitos na terceira colheita. As variáveis analisadas foram quantidade e caracterização do óleo essencial das folhas frescas. A adubação nitrogenada não alterou o teor e a quantidade de óleo essencial produzido pela melissa. A dose de 160 kg ha<sup>-1</sup> de N proporcionou as menores porcentagens de geraniol (composto químico não desejável) nas três colheitas.

Palavras-chave: Melissa. Nitrogênio. Óleo essencial.

### CHAPTER 3. NITROGEN FERTILIZATION ON THE QUALITY OF ESSENTIAL OIL IN *Melissa officinalis* L.

#### ABSTRACT

*Melissa officinalis* L has stood out among the medicinal and aromatic plants mainly for essential oil production. Several studies have reported differences for nitrogen fertilization in oil productivity and quality for the Lamiaceae. The aim of this study was to evaluate if the nitrogen fertilization alters the quantity and the quality of the produced essential oil in *Melissa officinalis* L. Three experiments were conducted in the field, at the Experimental Farm of the Federal University of Parana, located in the city of Pinhais. Seedlings of Lemon balm were purchased commercially and grown in pre-prepared beds. The design was a randomized block design, where the treatments were five rates of nitrogen (0, 40, 80, 120 and 160 kg ha<sup>-1</sup> N), with five repetitions each. In the first experiment, treatments were applied 30 days after transplanting (DAT). In the second experiment, the topdressing was held with 30 kg ha<sup>-1</sup> N at 30 DAT, and the treatments were applied after the first harvest. In the third experiment, the topdressing was held with 30 kg ha<sup>-1</sup> N at 30 DAT, and the same rate, immediately after the first harvest and the treatments were applied after the second harvest. The variables analyzed were the amount and characterization of the essential oil of fresh leaves. Nitrogen fertilization does not change the content and the amount of essential oil produced by lemon balm. The dose of 160 kg ha<sup>-1</sup> N provided the lowest percentages of geraniol (not desirable chemical compound) in the three harvests.

Key-words: Lemon balm. Nitrogen. Essential oil.

### 3.1 INTRODUÇÃO

A *Melissa officinalis* L. tem se destacado entre as plantas medicinais e aromáticas, devido as suas propriedades terapêuticas com ação calmante, digestiva, antiviral, antioxidante e principalmente pela produção de óleo essencial. O óleo, devido seus componentes químicos, é muito utilizado pelas indústrias cosméticas na fabricação de xampus, sabonetes e hidratantes; alimentícias, na produção de licores; de produtos de limpeza, como aromatizantes; e nas indústrias farmacêuticas devido à sua atividade antioxidativa, sedativa, antivirótico, antibiótica, antibacteriana, antifúngica, analgésico, relaxante, expectorante, antialérgica, adstringente, antiséptica, antiinflamatória, antidiarreica, diurética, antiespasmótico e até mesmo tônico revigorante da pele (Lorenzi e Matos, 2002; Haber et al., 2005; Vaverková et al., 2012).

A melissa possui em suas folhas tricomas glandulares peltados, distribuídos principalmente na epiderme inferior, onde concentram a maior parte do óleo essencial, o qual é composto por citral (componente majoritário), citronelal, citronelol, limoneno, linalol e geraniol (Sadraei et al., 2003; Adinee et al., 2008; May et al., 2008; Biasi et al., 2009; Seidler-Lozykowska et al., 2013; Argyropoulos e Müller, 2014), que são formados por monoterpenos (união de isoprenos), sendo que os mesmos determinam a qualidade e o valor comercial do óleo essencial em função da sua composição qualitativa e quantitativa (Costa et al., 2012). Em relação a outras espécies, a melissa apresenta baixo rendimento de óleo essencial, entre 0,02 a 0,40%, porém o valor comercial geralmente é maior (Colussi et al., 2011).

O óleo essencial, substância volátil, é proveniente dos metabólitos secundários produzidos pelas plantas (Pimentel et al., 2006) e está relacionado com o sistema de defesa da planta às condições adversas do ambiente. A quantidade e a qualidade do seu princípio ativo produzido podem alterar consideravelmente em função de diversos fatores incluindo principalmente a nutrição da planta (Stefanini et al., 2002; Ramos et al., 2005; Gobbo-Neto e Lopes, 2007; May et al., 2008; Luz et al., 2009; Sales et al., 2009b; Rosal et al., 2011).

Devido à sua essencialidade e ser requerido em grande quantidade, o nitrogênio (N), além de atuar diretamente no crescimento das plantas, compõem diversas macromoléculas (proteínas, aminoácidos, clorofila entre outras) (Taiz e Zeiger, 2009). Em plantas medicinais e aromáticas, o N atua na produtividade de biomassa, bem como de óleo essencial, em função do aumento da biomassa por área, área foliar e taxa fotossintética (Deschamps et al., 2012).

Karamanos & Sotiropoulou (2013) estudando orégano (*Origanum vulgare* ssp.), obtiveram maior rendimento de óleo essencial quando aplicaram 80 kg ha<sup>-1</sup> de N, enquanto o



rendimento de óleo essencial em *Salvia sclarea* L., foi maior com doses de 80 a 120 kg ha<sup>-1</sup> de N fracionadas ao longo do cultivo (Yaseen et al., 2014).

O teor e qualidade do óleo essencial em resposta aos diferentes tipos de adubação e principalmente às doses de nutrientes, incluindo o N, ainda é pouco entendido. Isso se deve a uma grande parte dos trabalhos utilizarem adubos multinutrientes, principalmente de origem orgânica, o que dificulta atribuir os efeitos obtidos a um determinado nutriente. E pela existência de grande diversidade de plantas medicinais, que possuem diferentes mecanismos de biossíntese de metabolitos secundários.

Desse modo, o objetivo do trabalho foi avaliar se a adubação nitrogenada altera o teor e a composição do óleo essencial na *Melissa officinalis* L.

## 3.2 MATERIAL E MÉTODOS

### 3.2.1 Área experimental

O experimento foi realizado a campo, no Núcleo Temático em Horticultura (Setor de Plantas Medicinais, Aromáticas e Condimentares) na Fazenda Experimental do Canguiri da Universidade Federal do Paraná – UFPR, no Município de Pinhais, região Metropolitana de Curitiba - PR, a 25°23' latitude Sul e 49°07' longitude Oeste, com altitude de 930 metros. Segundo a classificação de Köppen, o clima da região é do tipo Cfb mesotérmico úmido sem estação seca definida, com geadas frequentes no inverno, com temperatura média do mês mais quente inferior a 22°C. O solo é caracterizado como Cambissolo Háplico (EMBRAPA, 2013), onde foram coletadas amostras na profundidade de 0-0,2 m para a realização de análises para caracterização química, conforme Marques e Motta (2003) e granulométrica (TABELAS 1 e 2).

TABELA 1. Atributos químicos do solo na área dos experimentos, na profundidade de 0-0,2 m.

pH		Al	H+Al	Ca	Mg	K	P	C
CaCl <sub>2</sub>	SMP		..... cmol <sub>c</sub> dm <sup>-3</sup> .....				..... g dm <sup>-3</sup> .....	
5,5	6,2	0	4,3	8,5	3,5	0,86	27,5	100,6

TABELA 2. Atributos granulométricos do solo na área dos experimentos, na profundidade de 0-0,2 m.

Argila	Silte	Areia Total ..... g kg <sup>-1</sup> .....	Areia Grossa	Areia Fina
525	150	325	141	184

### 3.2.2 Instalação e condução do experimento

As mudas de melissa foram adquiridas comercialmente (produzidas a partir de sementes da marca Feltrin<sup>®</sup>) e transplantadas no espaçamento de 0,3 x 0,3 m, em canteiros previamente preparados, com 1,2 m de largura. Na adubação de plantio, seguiu-se a recomendação para hortelã e menta (Maia e Furlani, 1996), pertencentes à mesma família da melissa, aplicando 20 kg ha<sup>-1</sup> de N, 40 kg ha<sup>-1</sup> de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> e 30 kg ha<sup>-1</sup> de K<sub>2</sub>O, na forma de ureia, supertriplo e cloreto de potássio, respectivamente, incorporados ao solo. O cultivo foi conduzido com sistema de irrigação por gotejamento, instalando fitas de gotejo ao longo dos canteiros. Para a cobertura dos mesmos utilizou-se mulching plástico (20 µ).

Foram conduzidos três experimentos, simultaneamente, entre os meses de outubro/2014 a abril/2015, em blocos ao acaso, onde os tratamentos constituíram de cinco doses de N em cobertura (0, 40, 80, 120 e 160 kg ha<sup>-1</sup> de N), aplicados na forma de ureia, com três repetições cada. Nos três experimentos cada parcela foi composta por 20 plantas, dispostas em quatro linhas de cinco plantas cada. Como parcela útil para as determinações, utilizaram-se as seis plantas centrais de cada parcela.

No primeiro experimento, os tratamentos (doses de N) foram aplicados aos 30 dias após o transplante (DAT), conforme época recomendada por Maia e Furlani, (1996) e a colheita foi realizada aos 60 DAT, depois de verificado visualmente o fechamento do canteiro pelas plantas.

No segundo experimento, foi realizada a adubação de cobertura com 30 kg ha<sup>-1</sup> de N aos 30 DAT (Maia e Furlani, 1996), em todas as parcelas. Aos 60 DAT, foi realizada a colheita de todo o experimento e logo após esta colheita (primeira colheita), foram aplicadas as doses de N correspondentes aos tratamentos. A colheita foi realizada aos 100 DAT, conforme o critério do primeiro experimento.

No terceiro experimento, foi aplicado em todas as parcelas 30 kg ha<sup>-1</sup> de N aos 30 DAT (Maia e Furlani, 1996). Aos 60 DAT foi realizada uma colheita (primeira colheita) de todo o experimento e logo após foi realizada a adubação de cobertura com 30 kg ha<sup>-1</sup> de N (Maia e Furlani, 1996), em todas as parcelas. Aos 100 DAT, foi realizada nova colheita

(segunda colheita) de todo o experimento e logo após os tratamentos (doses de N) foram aplicados. A colheita foi realizada aos 170 DAT, conforme o critério do primeiro experimento.

A época de aplicação da adubação de cobertura seguiu conforme recomendação de Maia e Furlani, (1996), parcelada aos 30 dias após o transplante (DAT) das mudas no canteiro, e logo após cada colheita. No primeiro experimento, os tratamentos foram aplicados aos 30 DAT, já que o objetivo era avaliar a influencia dos tratamentos para a primeira colheita. A colheita realizou-se aos 60 DAT, depois de verificado visualmente o fechamento do canteiro pelas plantas.

No segundo experimento, foi realizada adubação de cobertura com 30 kg ha<sup>-1</sup> de N aos 30 DAT (Maia e Furlani, 1996), em todas as parcelas. Aos 60 DAT, foi realizada a primeira colheita de todo o experimento e logo após foram aplicados os tratamentos (doses de N) para verificar o efeito na segunda colheita. A segunda colheita foi realizada aos 100 DAT, conforme critério adotado no primeiro experimento.

No terceiro experimento, foi aplicado em todas as parcelas 30 kg ha<sup>-1</sup> de N (Maia e Furlani, 1996), aos 30 DAT. Aos 60 DAT foi realizada uma primeira colheita de todo o experimento e logo após foi realizada a adubação de cobertura com 30 kg ha<sup>-1</sup> de N (Maia e Furlani, 1996), também em todas as parcelas. Aos 100 DAT, foi realizada a segunda colheita de todo o experimento e logo após foram aplicados os tratamentos (doses de N). A terceira colheita foi realizada aos 170 DAT, conforme o critério do primeiro experimento.

### 3.2.3 Variáveis analisadas

Após a colheita das parcelas submetidas aos tratamentos em cada experimento, realizou-se a extração do óleo essencial, que foi analisado em relação a sua quantidade e qualidade em função da produção de massa fresca.

A extração do óleo essencial deu-se pelo método de hidrodestilação, em aparelho tipo Clevenger com balão de 2 L, utilizando-se como amostra 100 g de folhas frescas de cada tratamento, as quais foram colocadas no balão com 1 L de água destilada. O tempo de extração foi de 2 horas. Após a destilação, o óleo armazenado em tubos de eppendorf em congelador até o momento das análises. Para a quantificação do óleo essencial das amostras utilizou-se micropipeta (10 - 100 µL). A produtividade de óleo essencial foi obtida pela multiplicação da produtividade de massa fresca de folha pela quantidade extraída de óleo.

Para avaliação da qualidade do óleo, realizou-se a identificação dos compostos do óleo essencial por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM). Esses procedimentos foram realizados no Laboratório de Ecofisiologia do Departamento de Fitotecnia e Fitossanitarismo, Setor de Ciências Agrárias (UFPR).

### 3.2.4 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados quanto à homogeneidade pelo teste de Bartlett, e posteriormente por análise de variância e pelo teste de Tukey a 5%.

## 3.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira colheita ocorreu aos 60 dias após o transplante (DAT) das mudas de melissa. Não foi possível quantificar o teor e a produtividade do óleo essencial no tratamento testemunha, devido à baixa quantidade do óleo extraído ( $< 10\mu\text{L g}^{-1}$ ), assim como para algumas repetições dos demais tratamentos, não possibilitando analisá-los estatisticamente (TABELA 3). Rodrigues et al. (2004) também obtiveram baixa produtividade de óleo essencial em menta nas primeiras colheitas devido, segundo os autores, a cultura não estar plenamente estabelecida apresentando baixo teor de óleo essencial.

O teor de óleo aumentou até a dose de  $120 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$ , voltando a diminuir na dose de  $160 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$ . Porém, a maior produtividade foi obtida com a aplicação de  $160 \text{ kg ha}^{-1} \text{ N}$ ,  $2,83 \text{ L ha}^{-1}$ , resultado que está relacionado diretamente com a produtividade de folhas (FIGURA 1) tecido onde se localizam maior parte dos tricomas, estruturas de armazenamento do óleo essencial (Biasi et al., 2009; Colussi et al., 2011).

TABELA 3. Teor e produtividade de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. na primeira colheita, em função das cinco doses de nitrogênio.

Dose de N $\text{kg ha}^{-1}$	Teor de óleo essencial ( $\text{mg g}^{-1} \text{ MS}$ )	Produtividade de óleo essencial ( $\text{L ha}^{-1}$ )
0	NO <sup>3</sup>	NO
40 <sup>1</sup>	0,80	1,20
80 <sup>1</sup>	0,79	1,27
120 <sup>2</sup>	1,32	1,85
160 <sup>2</sup>	0,73	2,83
Média	0,91	1,79

<sup>1</sup>Média de duas repetições; <sup>2</sup>Dados de uma repetição; <sup>3</sup>Não observado.

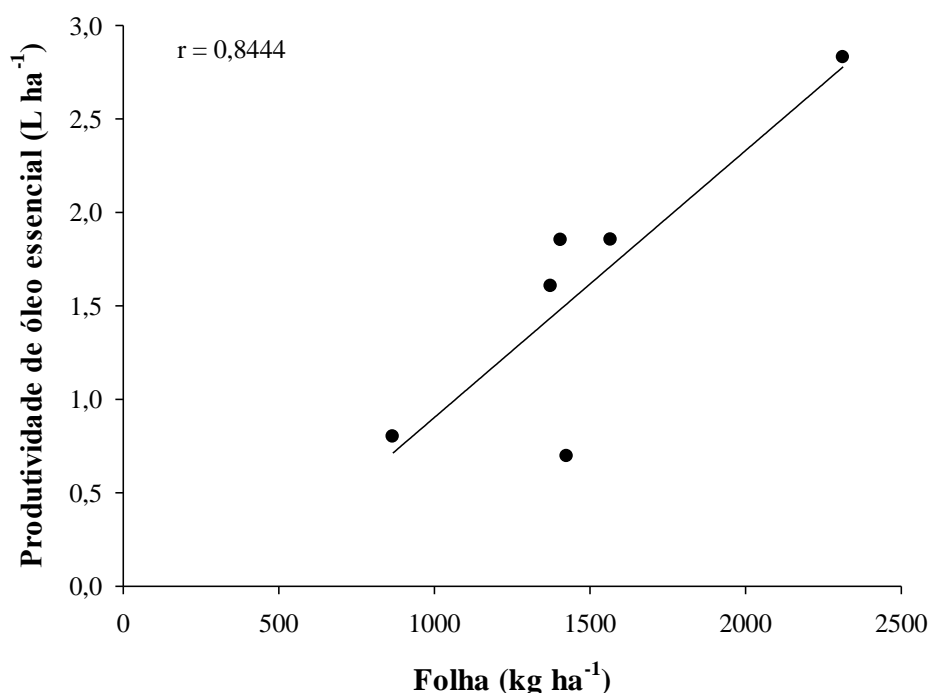


FIGURA 1. Correlação da produtividade do óleo essencial em função da produtividade de massa seca de folha na primeira colheita.

A valorização do óleo essencial da melissa está relacionada com a presença dos compostos majoritários, sendo eles o citral (neral + geranial) e citronelal, e, preferencialmente, a ausência de alcoóis terpênicos, tais com nerol, geraniol e citronelol (Luz et al., 2014). Foi identificado mais de 87 % das substâncias encontradas no óleo essencial da melissa na primeira colheita, entre elas o citral, em maior porcentagem. Este resultado corrobora com o de Luz et al. (2014), que ao avaliarem o rendimento e a composição de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. submetida a diferentes épocas de plantio, sistemas de cultivo e adubações, identificaram 80% das substancias encontradas no óleo essencial, prevalecendo como majoritários geranial, geraniol, neral, citronelal, cariofileno e linalol.

Houve aumento da porcentagem dos compostos majoritários do óleo essencial com o aumento das doses de N (TABELA 4), e redução para a porcentagem de geraniol, composto químico não desejável pela indústria, pois a sua presença em grandes porcentagens reflete em óleo de baixa qualidade (Blank et al., 2006).

Considerando os valores obtidos, com a aplicação de 160 kg ha<sup>-1</sup> N, houve aumento de aproximadamente 11% no teor de citral e diminuição de aproximadamente 21% no teor de geraniol, em relação às demais doses. Luz et al. (2014), encontraram valores de 47,97 e

31,33% de geranial e neral, respectivamente, no cultivo de melissa a campo com adubação mineral no verão, valores aproximados aos do presente estudo.

TABELA 4. Porcentagem média de geraniol, geranial, neral e citral no óleo essencial de *Melissa officinalis* L. na primeira colheita, em função das cinco doses de nitrogênio.

Dose de N kg ha <sup>-1</sup>	Geraniol	Geranial	Neral	Citral
	%			
0	NO <sup>3</sup>	NO	NO	NO
40 <sup>1</sup>	9,33	46,28	27,88	74,16
80 <sup>1</sup>	7,50	45,62	26,48	72,09
120 <sup>2</sup>	9,42	43,55	29,47	73,02
160 <sup>2</sup>	6,87	51,52	29,79	81,31
Média	8,28	46,74	28,41	75,15

<sup>1</sup> Média de duas repetições; <sup>2</sup> Corresponde a uma repetição; <sup>3</sup> Não observado.

Na segunda colheita, realizada 100 (DAT), foi possível a extração do óleo essencial e análise da sua composição em todas as parcelas (TABELAS 5 e 6). O teor de óleo assim como a produtividade, não variou entre os tratamentos, resultado diferente do encontrado por Deschamps et al (2012), que observaram redução do teor de óleo essencial de menta com o aumento da dose de nitrogênio de 20 para 40 kg ha<sup>-1</sup> de N.

Diferente da primeira colheita, a produtividade de óleo essencial não se correlacionou com a produtividade de folhas (FIGURA 2) na segunda colheita. Apesar disso, a maior produtividade de óleo em valores absolutos de 6,53 L ha<sup>-1</sup>, foi obtida no tratamento com aplicação de 120 kg de N ha<sup>-1</sup>, onde também se obteve a maior produtividade de folhas (1922 kg ha<sup>-1</sup> de MSF).

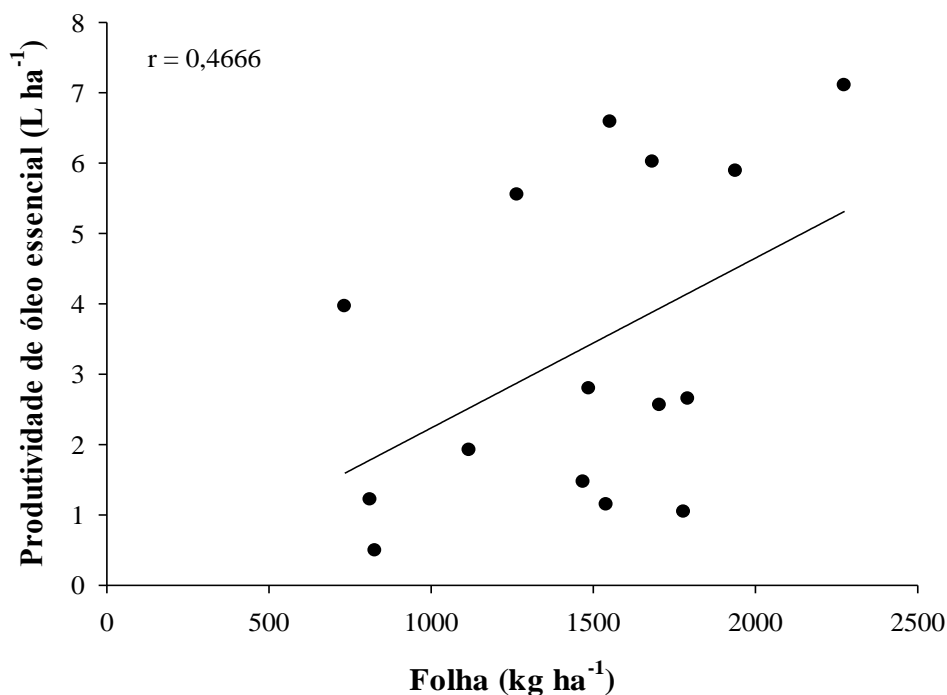


FIGURA 2. Correlação da produtividade do óleo essencial em função da produtividade de massa seca de folha na segunda colheita.

TABELA 5. Teor e produtividade média<sup>1</sup> de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. na segunda colheita, em função das cinco doses de nitrogênio.

Doses de N kg ha <sup>-1</sup>	Teor de óleo essencial mg g <sup>-1</sup> MS	Produtividade de óleo essencial L ha <sup>-1</sup>
0	0,37 a	2,22 a
40	0,39 a	2,52 a
80	0,46 a	3,37 a
120	0,42 a	6,53 a
160	0,41 a	2,17 a
Média	0,41	3,36
C.V. (%)	12,58	57,04

<sup>1</sup> Média de três repetições. Valores seguidos da mesma letra na coluna não diferem entre si – Tukey 5%.

A aplicação de N não alterou o teor dos compostos químicos do óleo essencial da melissa na segunda colheita (TABELA 6), diferente do encontrado por Deschamps et al. (2012) para menta, que com o aumento das doses de N de 20 para 40 kg ha<sup>-1</sup> observaram a redução da porcentagem de mentol.

TABELA 6. Porcentagem média<sup>1</sup> de geraniol, geranial, neral e citral no óleo essencial de *Melissa officinalis* L. na segunda colheita, em função das cinco doses de nitrogênio.

Dose de N kg ha <sup>-1</sup>	Geraniol	Geranial %	Neral	Citral
0	10,25 ab	42,39 a	29,43 a	72,29 a
40	9,96 ab	42,60 a	30,04 a	71,85 a
80	10,7 ab	41,73 a	29,87 a	71,31 a
120	11,30 a	41,26 a	30,72 a	71,49 a
160	7,01 b	39,23 a	26,24 a	66,41 a
Média	9,84	41,44	29,26	70,67
C.V. (%)	14,07	5,9	6,56	6,06

<sup>1</sup> Média de três repetições. Valores seguidos da mesma letra na coluna não diferem entre si – Tukey 5%.

A terceira colheita ocorreu aos 170 DAT e, também não foi possível quantificar o óleo essencial em algumas repetições (TABELA 7). Esta variabilidade entre as parcelas pode estar associada com a idade da planta, redução dos processos biossintéticos, senescência, redução das folhas e consequentemente da produção do óleo essencial (Figueiredo et al., 2009).

Na dose de 120 kg ha<sup>-1</sup> de N, assim como para a primeira colheita, houve maior rendimento (7,35 L ha<sup>-1</sup>) de óleo essencial (TABELA 7). Não houve correlação significativa entre produtividade de óleo essencial com a produtividade de folha, com rendimento médio de 4,34 L ha<sup>-1</sup> (FIGURA 3).



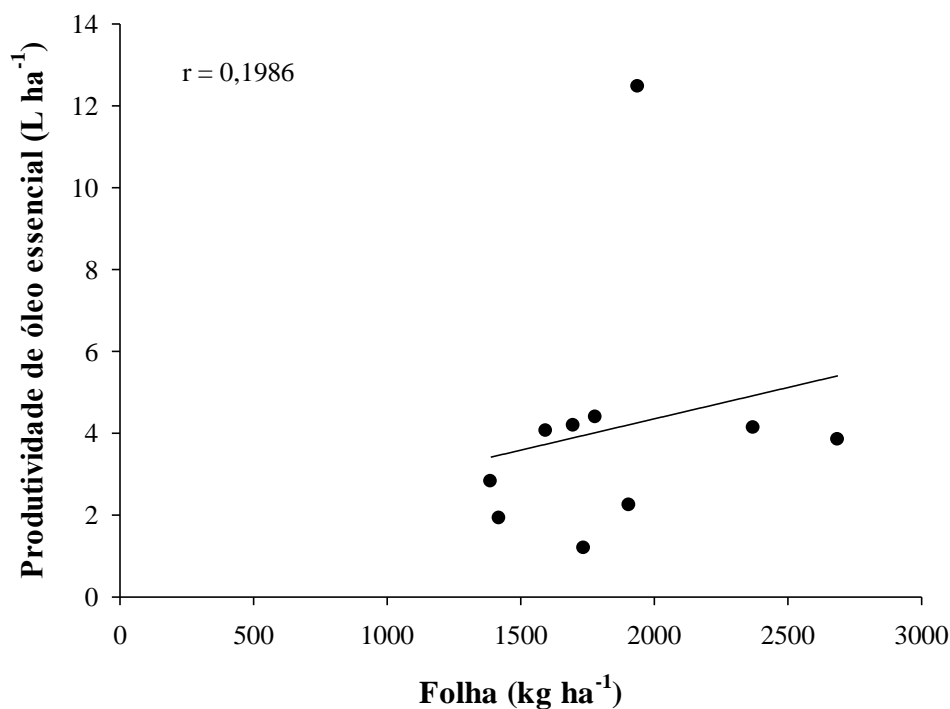


FIGURA 3. Correlação da produtividade do óleo essencial em função da produtividade de massa seca de folha na terceira colheita.

TABELA 7. Teor e produtividade de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. na terceira colheita, em função das cinco doses de nitrogênio.

Dose de N kg ha <sup>-1</sup>	Teor de óleo essencial (mg g <sup>-1</sup> MS)	Produtividade de óleo essencial (L ha <sup>-1</sup> )
0 <sup>1</sup>	1,78	4,06
40 <sup>2</sup>	1,44	4,26
80 <sup>2</sup>	1,49	4,02
120 <sup>2</sup>	1,70	7,35
160 <sup>2</sup>	0,88	2,01
Média	1,46	4,34

<sup>1</sup> Corresponde a uma repetição. <sup>2</sup> Média de duas repetições

O teor dos componentes do óleo não apresentou tendência de variação com as doses de N (TABELA 8), com os teores médios de 43,19, 29,09 % de geranial e neral, respectivamente. Luz et al. (2014), estudando melissa sob diferentes épocas de plantio, sistemas de cultivo, e adubações, encontraram valores de 47,97 e 31,33% de geranial e neral, respectivamente, no cultivo a campo com adubação mineral no verão, valores aproximados

aos do presente estudo, os quais são considerados bons pela indústria. Porém não constaram presença de geraniol, diferente do presente estudo em que foi constatado em média 10,07 % geraniol.

TABELA 8. Porcentagem média de geraniol, geranial, neral e citral no óleo essencial de *Melissa officinalis* L. na terceira colheita, em função das cinco doses de nitrogênio.

Dose de N kg ha <sup>-1</sup>	Geraniol	Geranial %	Neral	Citral
0 <sup>1</sup>	11,98	40,94	27,61	68,55
40 <sup>2</sup>	9,50	44,37	30,45	74,82
80 <sup>2</sup>	8,52	44,64	29,67	74,31
120 <sup>2</sup>	12,29	42,60	28,10	70,70
160 <sup>2</sup>	8,06	43,42	29,64	73,06
Média	10,07	43,19	29,09	72,29

<sup>1</sup> Corresponde a uma repetição. <sup>2</sup> Média de duas repetições.

A produtividade de óleo essencial de plantas medicinais depende do teor deste na planta e da quantidade de folha produzida (Sifola e Barbieri, 2006; Sales et al., 2009a; Corrêa et al., 2010; Rosal et al. 2011). Considerando os três experimentos, não foi possível relacionar a aplicação de N com o aumento do rendimento de óleo. Provavelmente por não ter sido obtido quantidades suficientes de óleo essencial em algumas parcelas da primeira e terceira colheitas.

A época de colheita pode influenciar no rendimento de óleo essencial. Segundo Bettiol e Morandi (2009), quando as plantas medicinais são cultivadas em ambientes com altas temperaturas (acima de 25 °C), há um aumento do teor de óleos essenciais, porém, o calor excessivo acaba ocasionando a perda destes óleos pela transpiração ou por outras rotas metabólicas.

Além da época de colheita, outros fatores podem ter influenciado na redução dos rendimentos de óleo essencial para a primeira e terceira colheita, como a temperatura, e radiação. Esses fatores influenciaram principalmente na terceira colheita, que ocorreu no mês de abril, início do outono, onde se tem a diminuição na temperatura e radiação, e os dias ficam mais curtos. Deschamps et al. (2008) e Biasi et al. (2009), observaram redução do teor de óleo essencial no cultivo de menta e melissa, devido a diminuição da temperatura, umidade e da radiação devido as estações do outono e inverno.

### 3.4 CONCLUSÕES

1. A adubação nitrogenada não afeta o teor de citral, mantendo o teor nos padrões para a melissa, e a quantidade de óleo essencial produzido pela melissa.
2. A dose de 160 kg ha<sup>-1</sup> de N proporcionou as menores porcentagens de geraniol nas três colheitas.

### 3.5 LITERATURA CITADA

- Adinee J, Piri K, Karami O. Essential oil component in flower of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). American Journal of Biochemistry and Biotechnology. 2008, 4:277-278.
- Argyropoulos D, Müller J. Changes of essential oil content and composition during convective drying of lemon balm (*Melissa officinalis* L.). Industrial Crops and Products. 2014; 52:118-124.
- Bettiol W, Morandi MAB. Biocontrole de Doenças de Plantas: uso e perspectivas. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente; 2009.
- Biasi LA, Kowalski APJ, Signor D, Alves MA, Lima FI, Deschamps C. Tipos de cobertura do solo e épocas de colheita na produção de melissa. Horticultura Brasileira. 2009; 27:314-318.
- Blank AF; Oliveira AS; Arrigoni-Blank MF; Faquin V. Efeitos da adubação química e da calagem na nutrição de melissa e hortelã- pimenta. Horticultura Brasileira. 2006; 24:195-198.
- Colussi TC, Dalmolin LF, Patchtmann M, Freitas GBL. *Melissa officinalis* L.: características gerais e biossíntese dos principais metabólitos secundários. Revista de Biologia e Farmácia. 2011; 5:89-100.
- Corrêa RM, Pinto JEBP, Reis ES, Costa LCB, Alves PB, Niculau ES, Brant RS. Adubação orgânica na produção de biomassa de plantas, teor e qualidade de óleo essencial de orégano (*Origanum vulgare* L.) em cultivo protegido. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. 2010; 12:80-89.
- Costa AG, Chagas JH, Pinto JEP, Bertolucci SKV. Crescimento vegetativo e produção de óleo essencial de hortelã-pimenta cultivada sob malhas. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 2012; 47:534-540.
- Deschamps C, Zanatta JL, Bizzo HR, Oliveira M DE C, Roswalka LC. Avaliação sazonal do rendimento de óleo essencial em espécies de menta. Ciência e Agrotecnologia. 2008; 32:725-730.
- Deschamps C, Monteiro R, Machado MP, Bizzo H, Biasi, L.A. Produção de biomassa, teor e composição do óleo essencial de *Mentha x piperita* L. em resposta a fontes e doses de nitrogênio. Revista Brasileira de Plantas Mediciniais. 2012; 14:12-17.

- EMBRAPA, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Sistema brasileiro de classificação de solos. 3.ed. Brasília; 2013.
- Figueiredo LS, Bonfim FPG, Siqueira CS, Fonseca MM, Silva AH, Martins ER. Effect of harvesting time on phytomass production and essential oil yield in "alecrim-pimenta" (*Lippia sidoides* Cham.). *Revista Brasileira Plantas Medicinais*. 2009; 11:154-158.
- Gobbo-Neto L, Lopes NP. Plantas medicinais: fatores de influência no conteúdo de metabólitos secundários. *Química Nova*. 2007; 30:374-381.
- Haber LL, Luz JMQ, Arvatidóro LF, Santos JE. Diferentes concentrações de solução nutritiva para o cultivo de *Mentha Piperita* e *Melissa officinalis*. *Horticultura Brasileira*. 2005; 23:1006-1009.
- Karamanos AJ, Sotiropoulou, DE. Field studies of nitrogen application on Greek oregano (*Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietswaart) essential oil during two cultivation seasons. *Industrial Crops and Products*. 2013; 46:246-252.
- Lorenzi H, Matos FJA. Plantas medicinais do Brasil: nativas e exóticas. Nova Odessa: Instituto Plantarum; 2002.
- Luz JMQ, Morais TPS, Blank AF, Sodré ACB, Oliveira GS. Teor, rendimento e composição química do óleo essencial de manjeri  o sob doses de cama de frango. *Horticultura Brasileira*. 2009; 27:349-353.
- Luz JMQ, Silva SM, Habber LL, Marquez MOM. Produção de óleo essencial de *Melissa officinalis* L. em diferentes épocas, sistemas de cultivo e adubações. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. 2014; 16:552-560.
- Maia NB, Furlani AMC. Menta ou hortelã. In: Raij B, Cantarella H, Quaggio JA, Furlani AMC. (eds). *Recomendações de adubação e calagem para o Estado de São Paulo*, 2. ed. Campinas: IAC, 1996, p.82 (Bol tim técnico 100).
- Marques R, Motta ACV. Análise química do solo para fins de fertilidade. In: *Manual de diagnóstico da fertilidade e manejo dos solos agrícolas*. 2  ed. Curitiba: Universidade Federal do Paraná; 2003.
- May A, Bovi AO, Sacconi LV, Samra AG, Pinheiro MQ. Produtividade da biomassa de melissa em função de intervalo de cortes e doses de nitrogênio. *Horticultura Brasileira*. 2008; 26:312-315.
- Pimentel FA, Cardoso MG, Salgado APSP, Aguiar PM, Silva VF, Morais AR, Nelson DLA. Convenient method for the determination of moisture in Aromatic Plants. *Química Nova*. 2006; 29:373-375.
- Ramos SJ, Fernandes LA, Marques, CCL, Silva DD, Palmeira CM, Martins ER. Produção de m teria seca e óleo essencial de menta sob diferentes doses de fósforo. *Revista Brasileira de Plantas Medicinais*. 2005; 8:9-12.
- Rodrigues CR, Faquin V, Trevisan D, Pinto JEBP, Bertolucci SKV, Rodrigues TM. Nutrição mineral, crescimento e teor de óleo essencial da menta em solução nutritiva sob

- diferentes concentrações de fósforo e épocas de coleta. *Horticultura Brasileira*. 2004; 22:576.
- Rosal LF, Pinto JEBP, Bertolucci SKV, Brant R da S, Niculau E dos S, Alves PB. Produção vegetal e de óleo essencial de boldo pequeno em função de fontes de adubos orgânicos. *Revista Ceres*. 2011; 58: 670-678.
- Sadraei H, Ghannadi A, Malekshahiet K. Relaxant effect of essential oil of *Melissa officinalis* and citral on rat ileum contractions. *Fitoterapia*. 2003; 74:445-452.
- Sales JF, Pinto JEBP, Botrel PP, Silva FG, Corrêa RM, Carvalho JG. Acúmulo de massa, teor foliar de nutrientes e rendimento de óleo essencial de hortelã-do-campo (*Hyptis marruboides*) cultivado sob adubação orgânica. *Bioscience Journal*. 2009a; 25:60-68.
- Sales JF, Pinto JEBP, Botrel PP, Silva FG, Correa RM, Carvalho JG. Germinação de sementes, crescimento da planta e composição química do óleo essencial de *Hyptis marruboides* EPl., Lamiaceae. *Bioscience Journal*. 2009b; 25:60-68.
- Seidler-Lozykowska K, Bocianowski J, Król D. The evaluation of the variability of morphological and chemical traits of the selected lemon balm (*Melissa officinalis* L.) genotypes. *Industrial Crops and Products*. 2013; 49:515-520.
- Sifola MI, Barbieri G. Growth, yield and essential oil content of three cultivars of basil grown under different levels of nitrogen in the field. *Scientia Horticulturae*. 2006; 108:408-413.
- Stefanini MB, Rodrigues SD, Ming LC. Ação de fitorreguladores no crescimento da erva-cidreira-brasileira. *Horticultura Brasileira*. 2002; 20:18-23.
- Taiz L, Zeiger E. *Fisiologia vegetal*. 4ª ed. Porto Alegre: Artmed; 2009.
- Vaverková S, Mistríková I, Farkas P. Qualitative properties of *Melissa officinalis* after the application of Rastim 30 DKV. *Botanica Serbica*. 2012; 36:81-84.
- Yaseen M, Singh M, Ram D, Singh K. Production potential, nitrogen use efficiency and economics of clarysage (*Salvia sclarea* L.) varieties as influenced by nitrogen levels under different locations. *Industrial Crops and Products*. 2014; 54:86-91.